UDK:632.763.5+632.25

LABORATORIYA SHAROITIDA KOLORADO QO'NG'IZI (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY) NING LICHINKALARGA QARSHI *BACILLUS THURINGIENSIS* 26 SHTAMMINING INSEKTISID FAOLLIGINI

[1]Bababekov Q.B., [1]Alamuratov R.A., [1]Qalandarova M.M.
[1]O'simliklar karantini va himoyasi ilmiy-tadqiqot instituti, Toshkent sh.
Tel: 91 005 95 10; e-mail: muslimarayimjonovna@mail.com

https://doi.org/10.5281/zenodo.8031890

Annotatsiya. *Chrysomelidae oilasi vakili bo'lgan kolorado qo'ng'izi kartoshkaning eng ko'p ziyon yetkazadigan zararkunandasi hisoblanadi. Unga qarshi asosan kimyoviy insektitsidlar qo'llanilib kelmoqda. Kimyoviy preparatlarning yuqori samaradorlikka ega bo'lishi bilan birga, atrof-muhit, foydali entomofaunaga nisbatan salbiy ta'sir etish xususiyatlariga egadir. Shu sababli kolorado qo'ng'iziga qarshi kurashda atrof-muhit, entomofauna va issiqqonli hayvonlar uchun bezarar bo'lgan mikrobiologik himoya vositalarini izlab topish va ishlab chiqarishga joriy etish muommasini yechishga bag'ishlangan. Ushbu maqolada zararkunandaga qarshi kurashda Bacillus thuringiensis 26 shtammini (L_{1+2}) va (L_{3+4}) yoshli lichinkalarga nisbatan insektisid faolligi baholandi. B.thuringiensis 26 shtammini koloroda qo'ng'izini 1-2 yoshli lichinkalariga nisbatan entomopatogenlik xususiyati(96%) yuqoriligi aniqlanadi.*

Kalit so'zlar: *Bacillus thuringiensis, bakteriya, insektisid faollik, kolorado qo'ng'izi, lichinka, spora, kristal, toksin.*

Kirish. Kartoshka (*Solanum tuberosum*) dunyodagi eng muhim oziq-ovqat ekinlari orasida to'rtinchi o'rinni egallaydi, inson iste'moli bo'yicha dunyoda makkajo'xori, bug'doy va guruchdan keying o'rinni egallaydi [11].

Kartoshka insoniyatni oziqlantirishda juda muhim rol o'ynaydi, shunga ko'ra, 2050 yilga borib 9,7 milliard kishilik dunyo aholisi bugungi kundagidan 70 foizga ko'proq oziq-ovqat talab qiladi va bu kengaygan aholini barqaror va to'yimli oziqlantirish global oziq-ovqat tizimini sezilarli darajada yaxshilashni talab qiladi [9.16]. Shimoliy va Sharqiy Yevropada muhim ekin bo'lib kelmoqda, aholi jon boshiga ishlab chiqarish hali ham dunyoda eng yuqori o'rinda turadi. 2021 yil holatiga ko'ra 376 million tonnani tashkil etgan [5.10.].

Kartoshkada kolorado qo'ng'izlari Shimoliy va Janubiy Amerikada 40 dan ortiq turi, shu jumladan Meksika shimolida 10 tur mavjud. Kartoshka va boshqa *Solanacea* o'simliklarining jiddiy zararkunandalari hisoblanadi [2.21].

Ammo bunday pestitsidlarni ko'plab qo'llanilishi oqibatida hasharotlarda ularga nisbatan chidamlilik hosil bo'lishi, bundan tashqari ishlatiladigan insektitsidlar atrof-muhitni ifloslantirishi, foydali entmofaunaga va issiqqonli hayvonlarga salbiy ta'sir etishi sababli ilm-fan oldiga o'simliklarni himoya qilishdaodam va tabiiy muhitga beziyon bo'lgan himoya usullarini topish dolzarb masalalardan hisoblanadi [7.17].

Uyg'unlashgan kurash tizimini asosiy o'zagi- bu zararli organizmlarga qarshi kurashda biologik himoya vositalarini qo'llashbo'lib, unin asosiy va istiqbolli yo'nalishi zararkunandalarga qarshi kurashda mikrobiologik usulni keng qo'llashdlan iborat. Uyg'unlashgan kurash tizimi turli xil o'simliklarni himoya qilish usullarini atrof-muhitga, foydali jonivorlarga, odamga ziyon

yetkazmadigan holatda uyg'unlashtirb qo'llashni taqoza qiladi [12.13]. Hozirgi kunda kolorado qo'ng'iziga qarshi mikrorganizmlardan *Bacillus* avlodiga mansub bo'lgan bakteriyalari ko'p qo'llaniladi. Bu bakteriya o'sish va rivojlanishi jarayonida muhitga δ-endotoksin, γ-ekzotoksin, β-ekzotoksin, Vip-oqsilli va Sip-oqsilli toksinlar ishlab chiqади. Kolorado qo'ng'iziga yuqorida keltirilgan bakteryaning spora, kristal va toksinlar kompleksi ta'siri natijasida zararkunanda kasallanib, nobud bo'ladi [3.6.8.14]. Bundan tashqari, Kolorado qo'ng'iziga qarshi *B. thuringiensis* bakteriyasining mutant shtammlari ham faol insektitsid faollikni namoyon etgan [24].

Bacillus thuringiensis bakteriyasining ajratib olingan aktiv shtammlarini entomopatogenlik darajasini kolorado qongizining holati va rivojlanish bosqichlariga bog'liqlikdir. Shu bog'liqni o'rganish uchun biz zararkunandani lichinkalik bosqichida zararkunandani har xil yoshdagi lichinkalarga entomopatogen Bt-26 shtammini ta'sirini o'rgandik.

Ushbu tadqiqot ishidan maqsad tabiatda kasallangan zararkunandalardan ajratib olingan *B.thuringiensis* bakteriyalarining insektitsid faolligini kolorado qo'ng'izining har-xil yoshdagi lichinkalariga qarshi sinashdan iboratdir.

Tadqiqot materiallari va uslublari. Tadqiqotlarimiz 2022-yil O'simliklar karantini va himoyasi ilmiy-tadqiqot institutining "Don va don dukkakli ekinlarning zararli organizmlariga qarshi kurashish" labaratoriyasida amalga oshirildi. *Bacillus thuringiensis* 26 shtammini kolorado qo'ng'izi (*Leptinotarsa decemlineata* Say) ning I-II-yoshli hamda III-IV-yoshli lichinkalariga (L_{1+2} - L_{3+4}) qarshi laboratoriya sharoitda biologik samaradorligi aniqlash uchun tajriba olib borildi.

Bakteriyalarni suyuq oziqa muxitida o'stirish uchun 750 ml hajmli Erlenmeyer kolbalaridagi suyuq peptonli ozuqa muhitga 5% inokulyat qo'shish orqali hamda, 160 aylanish/min tebratgichda, 28-30°C haroratda inkubatsiya qilish orqali amalga oshirdik. Бундай ozuqa muhitida o'stirilganda shtammning to'liq spora hosil qilishi 72-80 soatda amalga oshdi, bunda bakterya hujayralarning 90-95% spora hosil qilishga erishildi. *B. thuringiensis* 26 shtammi o'sgan kulturasidan суспензия тайёрладик, суспензиядаги bakteriya titri 1 ml da $2x10^9$ tashkil etdi. Kolorado qo'ng'izining lichinkalarini daladan yig'ish bo'yicha Evlaxova A. va Shvetsova O. (1964) usuli bo'yicha amalga oshirildi [18].

Suyuq oziqa muhitida o'sgan *B.thuringiensis* bakteriyasining insektitsid faolligini aniqlashda entomologik uslublarga muofiq, har bir tajriba va nazorat variantlari 3 qaytariqda qo'yildi. Har bir qaytariqda 10 donadan zararkunanda lichinkalari olinib, tajribalar qo'yildi [22]. Nazorat variantda kartoshka o'simligiga toza suv bilan ishlov berildi. Andoza sifatida *Bioslip-Bt* biopreparatidan foydalanildi.

Lichinkalar oziqlanishi uchun kartoshka o'simligining barg va novdalaridan foydalanildi. *B.thuringiensis* bakteriyasining toksinlari hasharotlarning o'rta ichaklaridagi o'ziga xos bog'lanish joylariga yopishadi. Natijada hasharotning ovqatlanishdan to'xtab, bakterioz kasalligi bilan kasallanadi va oxir-oqibat o'limiga olib keladi.

Kartoshka barglarga Bt-shtammidan tayyorlangan suspenziyadan 10 ml dan olinib kartoshka barglariga ishlanadi. Bu burglar bilan 10-15 daqiqadan sung lichikalarga ovqatlanish uchun beriladi. Zararkunanda lichinkalarini o'lish (nobud bo'lish) dinamikasi g'o'mbakka aylanganga qadar har 48 soatdan qayd etildi. Lichinkalarga to'mtoq ignani tegizib tekshirib ko'rilganda harakatlana olmaydiganlari o'lgan deb hisoblandi.

Nazorat varianti tozza suv bilan ishlov berildi. Tajribadagi zararkunandalar termostatlarga joylanib, bir xil harorat va namlikda ushlandi. Tajribalar 22-25°C haroratda va 45-50% namlikda saqlandi.

Sabzavot ekinlarda uchraydigan zararkunandalariga qarshi yangi himoya vositalarini laboratoriya sharoitda sinovdan o'tqazish Yevlaxova A.A. (1965); Sikura A.I (1981), uslubiy qo'llanmalaridan foydalanib bajariladi. [23.26] Tajriba variantlarida kolorado qo'ng'izi lichinkalariga qarshi Bt-26 shtamm bilan ishlandi. Tajriba va nazorat variantlardagi zararkunanda lichinkalarning o'limini hisobga olish ishlari tajribadan oldin hamda tajribadan keyingi 3, 7 va 14 kunlarda hisobga olindi.

Laboratoriya tajribalarida biologik samaradorlik Abbot formulasi (1925) bo'yicha aniqlandi [1]. Bs=(Ab-Ba)/Ab) x 100%

Bs - biologik samaradorlik,

A - tajriba variantida ishlov berilguncha bo'lgan zararkunanda soni;

a- ishlov berilgandan keyingi kunlarda kuzatilgan zararkunanda soni;

B- nazorat (dori sepilmagan) variantida ishlov berilgunga qadar zararkunandaning soni (zichligi);

b- nazorat variantida, keyingi kunlarda kuzatilgan zararkunanda soni.

Tadqiqot natijalari va ularning muhokamasi. Kolorado qo'ng'izining L_{1+2} yoshli lichinkalari bilan zararlangan kartoshka o'simligi *B. thuringiensis* 26 shtammi bilan ishlov berilganda hisobning 7 va 14- kunlarda biologik samaradorlik 61,4% va 96,0% ni tashkil etdi. Etalon sifatida qo'llanilgan Bioslip-Bt biopreparati zararkunandani 1-2 yosh lichinkalariga nisbatan 47,2% va 74,3% biologic samara berdi. Nazorat variantida kolorado qo'ng'iz lichinkalari 0,4 donaga kamaydi. *B. thuringiensis* 26 shtammi etalon sifatida qo'llanilganda Bioslip-Bt biopreparatiga nisbatan 14,2-21,7% insektitsid faolligi yuqori buldi (1-jadval).

B. thuringiensis 26 shtammi колorado qo'ng'izining 3-4 ёшли личинкаларига нисбатан(L_{3+4})биологик самарасини ўрганиш бўйича тадқиқотлар натижаси 1-жадвалда келтирилган. Бунда зараркунандани 3-4 ёшли личинкалари *B. thuringiensis* 26 shtammi bilan ishlov berilganda hisobning 7 va 14- kunlarda biologik samaradorlik 44,5% va 67,8% ni tashkil etdi. Эталон sifatida фойдаланилган Bioslip-Bt biopreparatini samaradorligi 30,0% va 49,6% tashkel etdi. Nazorat variantida kolorado qo'ng'izi lichinkalari 0,7 donaga kamaydi. *B. thuringiensis* 26 shtammi Bioslip-Bt biopreparatiga nisbatan 14,5-18,2% insektitsid faollikgi yuqori bo'ldi. *B. thuringiensis* 26 shtammi *L.decemlineata* ning L_{1+2} yoshli lichinkalari qarshi faollik L_{3+4} yoshli lichinkalarga nisbatan 28,2% yuqori bo'lganligi aniqlandi.

1-jadval.

***Bacillus thuringiensis* 26 shtammining kolorado qo'ng'iziga qarshi insektisid faolligi** (Tosh O'simliklar karantini va himoyasi ITI labaratoriya tajribasi, may 2022 yil).

№	Preparatlar	Tajriba davomiyligi (sutkada).				Samaradorlik, % kunlar bo'yicha.		
		Ishlovga qadar hasharotlar soni (donada).	Ishlov o'tqazilgandan keying kunlar.					
			3	7	14	3	7	14

A.	**Kolorado qo'ng'izi (*Leptinotarsa decemlineata* Say) ning I-II – yoshli lichinkalariga qarshi.**							
1	Nazorat–suv bilan ishlov berilgan.	21,2	21,2	21,0	20,8	--		
2	*B.thuringiensis* 26 (1ml da $2x10^9$)	20,4	15,2	7,8	0,8	25,5	61,4	**96,0**
3	Bioslip-Bt (1ml da $2x10^9$) (andoza).	21,4	17,6	11,2	5,4	17,7	47,2	**74,3**
Б.	**Kolorado qo'ng'izi (*Leptinotarsa decemlineata* Say) ning III-IV – yoshli lichinkalariga qarshi.**							
1	Nazorat–suv bilan ishlov berilgan.	20,0	20,0	19,6	19,3	--		
2	*B.thuringiensis* 26 (1ml da $2x10^9$)	20,6	16,4	11,2	6,4	20,4	44,5	**67,8**
3	Bioslip-Bt (1ml da $2x10^9$) (andoza).	21,0	17,2	14,4	10,2	18,1	30,0	**49,6**

Xulosa. O'tkazilgan tadqiqotlar natijasiga ko'ra kolorado qongiziga qarshi kurashda zararkunandadan ajratib olingan Bacillus thuringiensis 26 shtammini kolorado qo'ng'izining 1-2 yoshli lichinkalariga nisbatan ishlov berilgandan keyingi 14 kunda 96% ni tashkil etdi. Demak, bu shtammni kolorado qo'ng'izi lichinkalariga nisbatan entomopatogenlik darajasi yuqoriligi aniqlandi.

REFERENCES

1. Abbot W.S. A method of computing the effectiviness of an insecticide // J. Econ. Entomol. – 1925. – V.18. - №3. – P. 265-267.

2. Arnett Jr RH, Thomas MC, Skeppey PE, Frank JH. 2002. American Beetles, Vol 2. CRC Press. Boca Raton, USA. 861 pp.

3. Chakroun, M.; Banyuls, N.; Bel, Y.; Escriche, B.; Ferrй, J. Bacterial Vegetative Insecticidal Proteins (Vip) from Entomopathogenic Bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2016, 80, 329–350.

4. Capinera JL. 2001. Handbook of Vegetable Pests. Academic Press, San Diego, USA. 729 pp.

5. Deguchi, T.; Iwama, K.; Haverkort, A.J. Actual and Potential Yield Levels of Potato in Different Production Systems of Japan. Potato Res. 2016, 59, 207–225.

6. Donovan, W.P. Engleman, J.T. Donovan, J.C. Baum, J.A.; Bunkers, G.J. Chi, D.J. Clinton, W.P. English, L.; Heck, G.R. Ilagan, O.M. Discovery and characterization of Sip1A: A novel secreted protein from *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran larvae. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2006, 72, P.713–719.

7. Dubovskiy I. M., Grizanova E. V., Tereshchenko D., Krytsyna T. I.,

Alikina T., Kalmykova G., Kabilov M., Coates C. J. *Bacillus thuringiensis* Spores and Cry3A Toxins Act Synergistically to Expedite Colorado Potato Beetle Mortality// J. Toxins. 2021, 13, P. 1-17.

8. Ehling-Schulz, M. Lereclus, D. Koehler, T.M. The Bacillus cereus Group: Bacillus Species with Pathogenic Potential. Microbiol. Spectr. 2019, 7, P.7.

9. FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO. The state of food security and nutrition in the world 2018. Building climate resilience for food security and nutrition. FAO, Rome. 2018.

10. FAO. 2018 International Year of Potato. Available online: http://www.fao.org/potato-2008/en/potato/cultivation.html

11. FAO (2019) FAO statistical databases FAOSTAT. http://faostat3.fao.org.

12. Kogan M. Integrated pest management: historical perspectives and contemporary developments. Annu Rev Entomol. 1998; 43:243-270

13. Kroschel J, Mujica N, Alcazar J, Canedo V, Zegarra O. Developing integrated pest management for potato: experiences and lessons from two distinct potato production systems of Peru. In: He Z, Larkin RP, Honeycutt CW, editors. Sustainable potato production: global case studies. UK: Springer; 2012.p.419-450.

14. Malovichko, Y.V. Nizhnikov, A.A. Antonets, K.S. Repertoire of the bacillus thuringiensis virulence factors unrelated to major classes of protein toxins and its role in specificity of host-pathogen interactions. Toxins 2019, 11, P.347.

15. Mendel Friedman, Gary M. MacDonald and Mary Ann Philidelphie-Casey (1997). "Potato glycoalkaloids: chemistry, analysis, safety and plant physiology". Critical Reviews in Plant Science. 16(1): 55–132.

16. Stokstad (2019) Stokstad E. The new potato. Science. 2019; 363:574–577. doi: 10.1126/science.363.6427.574

17. Добрица А. П., Корецкая Н. Г., Гайтан В. И., Коломбет Л. В., Дербышев В. В., Жиглецова С. К. Разработка биопестицидов против колорадского жука//Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 2001, т. XLV, № 5-6. С. 174-184.

18. Евлахова А., Швецова О. Биологические методы борьбы с вредными насекомыми.-Л. 1964. С. 217.

19. Кадырова Г.Х., Шакиров З.С., Халилов И.М. Скрининг местных штаммов энтомо-патогенных бактерий группы Bacillus thuringiensis по способности к синтезу β-экзотоксина//ДАН. 2010. №4. С. 85-89.

20. Минаева О.М., Акимова Е.Е., Зюбанова Т.И., Терещенко Н.Н. Биопрепараты для защиты растений: оценка качества и эффективности// Учебное пособие, Издательский Дом Томского государственного университета, 2018, С. 106-107.

21. Остонақулов Т. Э. Картошка етиштириш// илмий нашр / «Агробанк» АТБ. - Тошкент: "ТАСВИР" нашриёт уйи, 2021. 3, 100-б.

22. Павлюшин В.А., Вилкова Н.А., Сухорученко Г.И., Фасулати С.Р., Надыкта В.Д., Исмаилов В.Я. Яковлева И.Н., Скрябин К.Г., Дорохов Д.Б. Методические рекомендации по индикации и мониторингу процессов адаптации колорадского жука к генетически модифицированным сортам картофеля. СПб, РАСХН, ВИЗР, 2005. С. 41.

23. Сикура А.И., Сикура Л.В. Энтомопатогены – грибы, бактерии, простейшие, нематоды// Колорадский картофелный жук. М.: Наука, 1981.- С.123.

24. Ўзбекистон Республикаси патенти, раками: № 03054. 2006. Бюлл.№3: «Зараркунанда хашаротларга карши инсектицид препарат ишлаб чикариш учун Bacillus thuriengensis var thuringiensis 45-M1th №СКВ-349 бактериялар штамми» Хужамшукуров Н.А., Халилов И.М., Гузалова А.Г., Троицкая Е.Н., Мурадов М.М., Юсупов Т.Ю., Давранов К.Д.

25. Халилов И.М.,Мухсимов Н.П., Нормаматова Ф.С., Султанов Р.А. Изучение энтопатогенной активности местных штаммов бактерий Bacillus thuringiensis против гусениц непарного шелкопряда//ДАН. 2013. №2. С.46-50.

26. Евлахова А.А., Швецова О.И. “Болезни вредных насекомых” (1965),“Методические указания по испытанию битоксибациллина против колорадского жука и совок на хлопчатнике” (1978).