TRICHODERMA AVLODLARINI LABORATORIYA SHAROITIDA KO‘PAYTIRISH VA QISHLOQ XO‘JALIGIDA BIOLOGIK VOSITA SIFATIDA QO‘LLASHNING BIOTEXNOLOGIK ASOSLARI

Shuhratov M.B.
Davronova D.
Xodjayeva N. J.
Samarqand davlat veterinariya meditsinasi, chorvachilik va biotexnologiyalar universiteti
n.xodjayeva@eandex.ru

Annotatsiya. *Maqolada Trichoderma avlodiga mansub zamburug‘larning biologik xususiyatlari, qishloq xo‘jaligida biologik himoya agenti sifatidagi ahamiyati hamda laboratoriya sharoitida ko‘paytirishning asosiy biotexnologik yondashuvlari tahlil qilindi. Adabiyotlar ma’lumotlariga ko‘ra, Trichoderma biomassasi va konidiyalarini olishda qattiq fazali fermentatsiya, suyuq muhitda yetishtirish va keyingi formulatsiya bosqichlari qo‘llanadi. Ko‘paytirish samaradorligiga oziqa substrati, namlik, harorat, muhit pH qiymati, inokulyum miqdori, aeratsiya va inkubatsiya davomiyligi sezilarli ta’sir ko‘rsatadi. Bug‘doy kepagi, guruch va boshqa qishloq xo‘jaligi chiqindilaridan foydalanish arzon substrat sifatida istiqbolli hisoblanadi. Maqolada laboratoriya tajribalarini tashkil etish uchun Petri kosachalari, probirkalar va Erlenmeyer kolbalaridan foydalanish, shuningdek, sof kulturani olishdan boshlab biomassani baholashgacha bo‘lgan bosqichlar tizimlashtirildi. Trichoderma preparatlarining samaradorligini baholashda faqat morfologik belgilar emas, balki tirik konidiyalar soni va biologik faollik ko‘rsatkichlarini ham nazorat qilish zarurligi asoslandi.*

Kalit so‘zlar. *Trichoderma, Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, biokontrol agent, qattiq fazali fermentatsiya, suyuq fermentatsiya, konidiya, biomassa, oziqa muhiti, biofungitsid.*

Аннотация. *В статье проанализированы биологические особенности грибов рода Trichoderma, их значение в качестве агробиологического агента и основные биотехнологические подходы к культивированию в лабораторных условиях. По данным литературы, для получения биомассы и конидий*

Trichoderma применяются твердофазная ферментация, глубинное культивирование в жидких средах и последующая разработка стабильной препаративной формы. Эффективность культивирования зависит от состава субстрата, влажности, температуры, pH среды, количества инокулюма, аэрации и продолжительности инкубации. Перспективным направлением является использование доступных сельскохозяйственных субстратов, включая пшеничные отруби и рис. В работе систематизированы основные этапы лабораторного получения культуры — от выделения и поддержания чистой культуры до оценки роста, спорообразования и жизнеспособности конидий. Подчеркнута необходимость стандартизированной оценки качества получаемого материала перед его использованием в биологических экспериментах.

Ключевые слова. *Trichoderma, Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, биоконтроль, твердофазная ферментация, жидкая ферментация, конидии, биомасса, питательная среда, биофунгицид.*

Abstract.*The article reviews the biological characteristics of Trichoderma species, their importance as biological control agents in agriculture, and the principal biotechnological approaches for laboratory cultivation. According to published studies, Trichoderma biomass and conidia can be produced by solid-state fermentation, submerged cultivation and subsequent formulation. Cultivation efficiency depends on substrate composition, moisture, temperature, pH, inoculum level, aeration and incubation time. Low-cost agricultural substrates such as wheat bran and rice are promising for mass production. The main laboratory stages, from maintenance of a pure culture to assessment of growth, conidiation and conidial viability, are systematized. The article emphasizes that the quality of Trichoderma preparations should be evaluated using standardized microbiological indicators, including viable propagule counts and biological activity, rather than morphology alone.*

Keywords*. Trichoderma, Trichoderma harzianum, Trichoderma asperellum, biological control agent, solid-state fermentation, submerged fermentation, conidia, biomass, culture medium, biofungicide.*

Kirish. Qishloq xo‘jaligida o‘simliklarni kasalliklardan himoya qilishda mikrobiologik va biotexnologik usullardan foydalanishga qiziqish ortib bormoqda. Bunda foydali mikroorganizmlar asosida yaratiladigan biologik vositalar kimyoviy vositalardan foydalanishni kamaytirish, o‘simliklarning o‘sishi va ildiz tizimi

rivojlanishini qo‘llab-quvvatlash hamda agroekotizimdagi mikrobiologik jarayonlarni boshqarish imkonini beradi. Trichoderma avlodi vakillari ushbu yo‘nalishda keng o‘rganilgan filamentli zamburug‘lardan biri bo‘lib, ular o‘simlik patogenlariga qarshi antagonistik faollik, mikoparazitizm, oziqa va makon uchun raqobat hamda o‘simlikning himoya reaksiyalarini rag‘batlantirish kabi mexanizmlarda ishtirok etadi [1, 2].

Trichoderma turlarining biologik nazoratdagi salohiyati turli sharhlarda qayd etilgan. Thambugala va hammualliflar Trichoderma avlodini zamburug‘ patogenlariga qarshi qo‘llaniladigan muhim biologik agentlar guruhiga kiritgan va Trichoderma harzianum keng tijoratlashtirilgan vakillardan biri ekanini ko‘rsatgan [1]. Shu bilan birga, biologik samaradorlik shtammga xos bo‘lishi sababli bitta turning barcha shtammlarini bir xil xususiyatga ega deb baholash to‘g‘ri emas.

Trichoderma asosidagi biopreparatni yaratishda faqat faol shtammni tanlash yetarli emas. Kulturani ko‘paytirish texnologiyasi, inokulyumning sifati, substratning oziqaviy tarkibi, namligi, aeratsiyasi, harorati va keyingi formulatsiya jarayoni mahsulotning biologik faolligi va saqlanishiga ta’sir qiladi [3, 4]. Shuning uchun laboratoriya sharoitida ko‘paytirish jarayonini standartlashtirish keyingi tajribalar uchun muhim bosqich hisoblanadi.

Tadqiqotning maqsadi Trichoderma avlodiga mansub zamburug‘larni laboratoriya sharoitida ko‘paytirishning asosiy usullarini ilmiy adabiyotlar asosida tizimlashtirish va qishloq xo‘jaligida foydalanishga mo‘ljallangan biomaterial olish uchun muhim texnologik omillarni aniqlashdan iborat.

Ushbu maqsadga erishish uchun quyidagi vazifalar belgilandi: Trichodermaning biologik va biokontrol xususiyatlarini tahlil qilish; sof kulturani saqlash va ko‘paytirish bosqichlarini tavsiflash; qattiq va suyuq fazali fermentatsiyaning afzalliklarini taqqoslash; substrat, namlik, pH, harorat, aeratsiya va inkubatsiya davomiyligining ahamiyatini yoritish; laboratoriya sharoitida o‘sish va sporalanishni baholash ko‘rsatkichlarini tizimlashtirish.

Laboratoriya bosqichida sof kulturani saqlash uchun Petri kosachalari va probirkalardagi qattiq oziqa muhitlaridan, biomassani suyuq sharoitda olish uchun esa Erlenmeyer kolbalaridan foydalanish mumkin. Suyuqlikda yetishtirishda gaz almashinuvi va aralashtirish, qattiq substratda esa namlik, aeratsiya va substratning bir tekis kolonizatsiyasi muhim hisoblanadi [4, 6].

Natijalar va muhokama. Adabiyotlar tahlili Trichodermani ko‘paytirishning ikki asosiy texnologik yo‘nalishini ajratish imkonini berdi: qattiq fazali fermentatsiya (SSF) va suyuq, ya’ni submerged fermentation. SSF filamentli

zamburug‘lar uchun ayniqsa qulay bo‘lib, bunda mikroorganizm nam, ammo erkin suv miqdori cheklangan qattiq substratda rivojlanadi. Bunday sharoit zamburug‘larning tabiiy o‘sish muhitiga ma’lum darajada yaqin bo‘lib, arzon qishloq xo‘jaligi xomashyolaridan foydalanish imkonini beradi [4, 5].

Sachdev va hammualliflar Trichoderma lixii ni qattiq fazali fermentatsiyada ko‘paytirishda agrochiqindilardan foydalanish imkoniyatini ko‘rsatgan. Tadqiqotda substrat turi, harorat, namlik va boshqa jarayon omillarini optimallashtirish massaviy ko‘paytirish samaradorligiga ta’sir qilishi aniqlangan [4]. Mulatu va hammualliflarning tadqiqotida esa bug‘doy kepagi va oq guruch aralashmasi ayrim Trichoderma shtammlarida yuqori konidiya hosil bo‘lishini ta’minlagan; muhim omillar qatorida harorat, namlik, inokulyum miqdori va inkubatsiya davomiyligi qayd etilgan [5]. Ushbu natijalar substrat tanlashda faqat uglerod manbai emas, balki substratning fizik tuzilishi, namlikni ushlab turish qobiliyati va aeratsiya xususiyatlarini ham hisobga olish zarurligini ko‘rsatadi.

Qattiq fazali fermentatsiyaning yana bir afzalligi — ishlab chiqarish xarajatlarini kamaytirish imkoniyatidir. Qishloq xo‘jaligi va oziq-ovqat sanoati chiqindilaridan foydalanish xomashyo xarajatlarini pasaytirishi va chiqindilarni qayta qiymatlashga yordam berishi mumkin [4, 6]. Biroq katta hajmga o‘tkazilganda issiqlikni chiqarish, namlikni bir tekis taqsimlash, kislorod almashinuvi va jarayonni standartlashtirish murakkablashadi. Shu sababli laboratoriyadagi yaxshi natijani avtomatik ravishda sanoat miqyosiga ko‘chirish mumkin emas [6].

Suyuq fermentatsiya biomassani bir xil muhitda olish, pH va aeratsiyani boshqarish hamda jarayon parametrlarini avtomatlashtirish imkonini beradi. Biroq filamentli zamburug‘larning suyuq muhitda morfologiyasi, masalan, erkin mitseliy yoki pelletlar shakllanishi, kislorod va oziqa moddalari uzatilishiga ta’sir qilishi mumkin. Shu bois suyuq fermentatsiyada aralashtirish tezligi, aeratsiya va muhitning reologik xususiyatlari alohida nazorat qilinadi [6].

Trichoderma ni laboratoriyada ko‘paytirishning dastlabki bosqichida sof kulturani olish muhim. Kontaminatsiyalangan kulturadan foydalanish biomassaning o‘sish tezligi, sporalanishi va keyingi biologik faollik natijalarini buzishi mumkin. Shuning uchun koloniya morfologiyasi bilan bir qatorda mikroskopik belgilar va zarur hollarda molekulyar identifikatsiya orqali shtammning to‘g‘ri aniqlanishi maqsadga muvofiq [1, 2].

Trichoderma kulturasi uchun oziqa muhitini tanlashda maqsadga qarab yondashish kerak. Agar maqsad sof kulturani saqlash va koloniya morfologiyasini o‘rganish bo‘lsa, agarli muhitlar qulay. Agar maqsad biomassani ko‘paytirish bo‘lsa,

suyuq muhitlar qo‘llanishi mumkin. Ko‘p miqdorda konidiya olish uchun esa qattiq fazali fermentatsiya amaliy jihatdan istiqbolli hisoblanadi [3–5].

Laboratoriya tajribasida o‘sish natijasini faqat koloniya rangining o‘zgarishi bilan baholash yetarli emas. Koloniya diametri, biomassa quruq massasi, sporalanish darajasi, konidiyalar soni va tirik propagulalar miqdori kompleks ko‘rsatkichlar sifatida qo‘llanishi mumkin. Ayniqsa, preparat formulatsiyasidan oldin tirik mikroorganizmlar sonini aniqlash uning biologik sifatini baholash uchun muhimdir [3, 5].

1-jadval

Trichoderma ni ko‘paytirish usullarining qiyosiy tavsifi

Ko‘rsatkich	Qattiq fazali fermentatsiya	Suyuq fermentatsiya	Laboratoriya nazorati
Asosiy substrat	Kepak, guruch, don va agrochiqindilar	Suyuq oziqa muhiti	Muhit tarkibi va steril holati
Asosiy mahsulot	Konidiyalar va biomassa	Biomassa va ayrim propagulalar	Quruq massa/konidiya miqdori
Muhim omillar	Namlik, harorat, aeratsiya, substrat	pH, aeratsiya, aralashtirish, harorat	Har bir parametrni standartlashtirish
Afzalligi	Arzon substrat, yuqori sporalanish imkoniyati	Jarayon parametrlarini boshqarish qulay	Kichik hajmda tez taqqoslash
Cheklovi	Issiqlik va namlikni bir xil boshqarish qiyin	Morfologiya va kislorod uzatilishini boshqarish zarur	Kontaminatsiya xavfi va shtammga bog‘liqlik

Trichoderma asosidagi formulatsiyalarni ishlab chiqish bo‘yicha zamonaviy sharhlarda tashuvchi moddalar, quritish, mikroenkapsulyatsiya va saqlash barqarorligi alohida muammo sifatida ko‘rsatiladi. Martinez va hammualliflar formulatsiyaning vazifasi nafaqat faol propagulalarni saqlab qolish, balki ularning qo‘llash vaqtida hayotchanligi va biologik samaradorligini ta’minlash ekanini ta’kidlaydi [3]. Demak, ko‘paytirish texnologiyasini formulatsiyadan ajratib ko‘rish mumkin emas.

Ilmiy tajriba uchun eng maqbul yondashuv — bir xil shtammni turli substrat va muhitlarda parallel ravishda sinash, har bir variantni kamida uch takrorlashda olib

borish va natijalarni statistik tahlil qilishdir. Bunda nazorat varianti sifatida standart muhit yoki amaliyotda qabul qilingan substrat olinishi mumkin. Tajriba natijalarida o‘rtacha qiymat, standart og‘ish yoki standart xato hamda zarur hollarda dispersiya tahlili keltirilishi lozim.

Shuningdek, laboratoriya sharoitida kulturani yopiq holda mutlaqo germetik saqlash maqsadga muvofiq emas, chunki filamentli zamburug‘larning rivojlanishi uchun gaz almashinuvi zarur. Shu bilan birga, idishlar tashqi kontaminatsiyadan himoyalangan bo‘lishi kerak. Amaliy jihatdan Petri kosachalarida qattiq muhitdagi kulturani, Erlenmeyer kolbalarida esa suyuq kulturani olib borish qulay. Qattiq fazali tajribalarda steril substratni havo almashinuvi va namlikni nazorat qilish imkonini beradigan laboratoriya idishlarida saqlash mumkin.

Xulosa. Adabiyotlar tahlili Trichoderma avlodiga mansub zamburug‘larni ko‘paytirishda qattiq fazali va suyuq fermentatsiya usullari o‘zining alohida afzalliklariga ega ekanini ko‘rsatdi. Qattiq fazali fermentatsiya arzon qishloq xo‘jaligi substratlaridan foydalanish va konidiyalar hosil bo‘lishini ta’minlash imkoniyati bilan ajralib turadi, suyuq fermentatsiya esa biomassani olish va jarayon parametrlarini boshqarish uchun qulay. Ko‘paytirish samaradorligi shtamm, substrat, namlik, harorat, pH, inokulyum miqdori, aeratsiya va inkubatsiya davomiyligining o‘zaro ta’siriga bog‘liq.

Laboratoriya tadqiqotlari uchun sof kulturani olish, kontaminatsiyani nazorat qilish, standartlashtirilgan muhitdan foydalanish va biomassa hamda tirik konidiyalarni miqdoriy baholash asosiy shartlardan hisoblanadi. Kelgusidagi tadqiqotlarda mahalliy qishloq xo‘jaligi xomashyolari asosida Trichoderma ni ko‘paytirish muhitlarini optimallashtirish, konidiya hosil bo‘lishini oshirish, saqlash barqarorligini baholash va o‘simlik kasalliklariga qarshi biologik samaradorlikni dala sharoitida tekshirish maqsadga muvofiq.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Thambugala K.M., Daranagama D.A., Phillips A.J.L., Kannangara S.D., Promputtha I. Fungi vs. Fungi in Biocontrol: An Overview of Fungal Antagonists Applied Against Fungal Plant Pathogens // Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. – 2020. – Vol. 10. – Article 604923. – DOI: 10.3389/fcimb.2020.604923.

2. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M. Trichoderma species — opportunistic, avirulent plant symbionts // Nature Reviews Microbiology. – 2004. – Vol. 2. – P. 43–56. – DOI: 10.1038/nrmicro797.

3. Martinez Y., Ribera J., Schwarze F.W.M.R., De France K. et al. Biotechnological development of Trichoderma-based formulations for biological control // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2023. – Vol. 107. – P. 5595–5612. – DOI: 10.1007/s00253-023-12687-x.

4. Sachdev S., Singh A., Singh R.P. Optimization of culture conditions for mass production and bio-formulation of Trichoderma using response surface methodology // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8. – Article 360. – DOI: 10.1007/s13205-018-1360-6.

5. Mulatu A., Alemu T., Megersa N., Vetukuri R.R. Optimization of Culture Conditions and Production of Bio-Fungicides from Trichoderma Species under Solid-State Fermentation Using Mathematical Modeling // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9, No. 8. – Article 1675. – DOI: 10.3390/microorganisms9081675.

6. Kumar V., Ahluwalia V., Saran S., Kumar J., Patel A.K., Singhania R.R. Recent developments on solid-state fermentation for production of microbial secondary metabolites: Challenges and solutions // Bioresource Technology. – 2021. – Vol. 323. – Article 124566. – DOI: 10.1016/j.biortech.2020.124566.