DOI 10.66073/ReFocus-Conf/3010006

KASALLANGAN OLMA NAMUNALARIDAN *COLLETOTRICHUM* TURKUMI ZAMBURUG‘LARINI AJRATISH VA IDENTIFIKATSIYA QILISH

Ravshanov Hamroqul To‘ymurod o‘g‘li[1], **Ruzmetov D.R.**[2], **Sherimbetov A.G.**[2], **Kadirova Zuhra Abrarovna**[1], **Xalmuratov A.N.**[1], **Eshjonov T.D.**[1]

Mirzo Ulug‘bek nomidagi O‘zbekiston Milliy universiteti[1] *O‘zR FA Genetika va o‘simliklar eksperimental instituti*[2]

Annotatsiya: Ushbu maqolada kasallangan olma (*Malus domestica*) namunalaridan *Colletotrichum* turkumiga mansub fitopatogen zamburug‘larni ajratib olish va identifikatsiya qilishning asosiy usullari yoritilgan. Shuningdek, kasallik belgilari kuzatilgan olma namunalaridan fitopatogen zamburug‘larni ajratish, sof kulturaga olish va keyingi *Colletotrichum* izolyatlarini morfologik hamda molekulyar jihatdan aniqlashga qaratilgan tadqiqotning dastlabki metodik bosqichlari yoritiladi. Tadqiqot davomida kasallik belgilari kuzatilgan olma mevalaridan namunalar olinib, laboratoriya sharoitida zamburug‘larning sof kulturalari ajratib olinadi. Ajratilgan izolyatlarning o‘sish xususiyatlari, koloniya rangi, mitseliy tuzilishi, sporalari, konidiyalar va appressoriyalarning morfologik belgilari mikroskopik usulda o‘rganiladi. Shuningdek, *Colletotrichum* turkumi zamburug‘lari o‘simliklarda antraknoz kasalliklarini keltirib chiqaruvchi eng xavfli fitopatogenlardan biri hisoblanadi. Mazkur tadqiqot natijalari olma kasalliklarini keltirib chiqaruvchi *Colletotrichum* turkumi vakillarini aniqlash, ularning biologik xususiyatlarini o‘rganish hamda kasalliklarga qarshi samarali kurash choralarini ishlab chiqish uchun ilmiy asos bo‘lib xizmat qilishi mumkin.

Kalit so‘zlar: *Colletotrichum*, olmaning achchiq chirishi, appressoriy, fitopatogen, antraknoz, sof kultura, ITS, morfologik identifikatsiya, molekulyar identifikatsiya.

Аннотация: В данной статье рассмотрены основные методы выделения и идентификации фитопатогенных грибов рода *Colletotrichum* из образцов поражённых яблок (*Malus domestica*). Кроме того, освещены первоначальные методические этапы исследования, направленного на выделение фитопатогенных грибов из образцов яблок с признаками заболевания, получение чистых культур и последующую морфологическую и молекулярную идентификацию изолятов *Colletotrichum*. В ходе исследования образцы отбираются из плодов яблони с выраженными признаками заболевания, после чего в лабораторных условиях проводится выделение чистых культур грибов. Изучаются особенности роста выделенных изолятов, окраска и структура колоний, строение мицелия, спор, конидий и аппрессориев с использованием микроскопических методов. Кроме того, представители рода *Colletotrichum* относятся к числу наиболее опасных фитопатогенных грибов, вызывающих заболевания антракнозного типа у растений. Результаты данного исследования могут послужить научной основой для выявления представителей рода *Colletotrichum*, вызывающих заболевания яблони, изучения их биологических особенностей, а также разработки эффективных мер борьбы с данными заболеваниями.

Ключевые слова: *Colletotrichum*, горькая гниль яблок, аппрессории, фитопатоген, антракноз, чистая культура, ITS, морфологическая идентификация, молекулярная идентификация.

IQTIBOS UCHUN
Ravshanov H.T., Ruzmetov D.R., Sherimbetov A.G., Kadirova Z.A. va boshq. Kasallangan olma namunalaridan Colletotrichum turkumi zamburug‘larini ajratish va identifikatsiya qilish // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning bugungi holati va rivojlanish istiqbollari: yosh olimlar nigohi: Respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. – Toshkent, 2026. – B. 41–44.
DOI: https://doi.org/10.66073/ReFocus-Conf/3010006

Abstract: This article reviews the main methods for the isolation and identification of phytopathogenic fungi belonging to the genus *Colletotrichum* from diseased apple (*Malus domestica*) samples. It also describes the initial methodological stages of the study aimed at isolating phytopathogenic fungi from apple samples showing disease symptoms, obtaining pure cultures, and subsequently identifying *Colletotrichum* isolates using morphological and molecular approaches. During the study, samples are collected from apple fruits exhibiting visible disease symptoms, followed by the isolation of pure fungal cultures under laboratory conditions. The growth characteristics of the isolated strains, colony colour and structure, mycelial characteristics, spores, conidia, and appressoria are examined using microscopic methods. In addition, fungi of the genus *Colletotrichum* are considered among the important and potentially destructive phytopathogens responsible for anthracnose diseases in plants. The results of this study may provide a scientific basis for identifying representatives of the genus *Colletotrichum* that cause apple diseases, studying their biological characteristics, and developing effective measures for disease control.

Keywords: *Colletotrichum*, apple bitter rot, appressoria, phytopathogen, anthracnose, pure culture, ITS, morphological identification, molecular identification.

Kirish

Bugungi kunda insoniyatning ozuqa manbai hisoblangan o‘simliklarga zarar keltiradigan fitopatogenlar bilan kurashish, ayniqsa, hozirgi davrda dolzarb muammolardan biri bo‘lib qolmoqda. Olma (*Malus domestica*) dunyoda keng yetishtiriladigan va iqtisodiy jihatdan muhim mevali ekinlardan biri hisoblanadi. Olma hosildorligi va meva sifatiga turli bakterial, virusli va zamburug‘li kasalliklar salbiy ta’sir ko‘rsatadi. Shunday kasalliklardan biri *Colletotrichum* turkumiga mansub zamburug‘lar bilan bog‘liq antraknoz va achchiq chirish kasalliklaridir. Ushbu turkum vakillari ko‘plab ekinlarda antraknoz, meva chirishi, barg va poya zararlanishlarini yuzaga keltiradi.

Colletotrichum turkumi turlarining patogenlik darajasi va ekologik moslashuvi bir xil emasligi sababli kasallik qo‘zg‘atuvchisini tezda aniqlash kasallik epidemiologiyasi va nazorat strategiyasini ishlab chiqishda muhim hisoblanadi. Shuningdek, olma yetishtirishda *Colletotrichum* bilan bog‘liq *bitter rot* — achchiq chirish kasalligi muhim muammolardan biridir. Zamonaviy tadqiqotlarda olma mevalaridan ajratilgan *Colletotrichum* izolyatlari orasida *C. fioriniae*, *C. chrysophilum*, *C. fructicola* va boshqa turlar aniqlangan; ayrim tadqiqotlarda yangi turlar ham tavsiflangan [1].

Colletotrichum turkumi vakillari ko‘plab qishloq xo‘jaligi ekinlarida kasallik keltirib chiqaruvchi muhim fitopatogen zamburug‘lar guruhiga kiradi. Ushbu turkumning taksonomiyasi murakkab bo‘lib, morfologik jihatdan bir-biriga o‘xshash turlar mavjudligi sababli ularni faqat tashqi belgilar asosida aniq ajratish har doim ham mumkin emas. Zamonaviy tadqiqotlarda morfologik belgilar bilan bir qatorda molekulyar-filogenetik usullarni qo‘llash *Colletotrichum* turlarini aniqlashning muhim qismi hisoblanadi [2].

Olmada *Colletotrichum* bilan bog‘liq kasalliklar ko‘pincha mevalarda yumaloq yoki biroz cho‘zinchoq, botiq, jigarrangdan to‘q ranggacha bo‘lgan chirish dog‘larining hosil bo‘lishi bilan namoyon bo‘ladi. Kasallik rivojlangan sari zararlangan joylar kengayib, mevaning ichki to‘qimalariga ham tarqalishi mumkin. Nam sharoitda zararlangan to‘qimalarda zamburug‘ning sporalarini hosil qiluvchi tuzilmalari rivojlanishi kuzatiladi [3].

Kasallik rivojlanganda zararlangan joylarda zamburug‘ning sporulyatsiya tuzilmalari paydo bo‘ladi. Ayrim *Colletotrichum* turlari olma barglarida ham dog‘lanish kasalliklari bilan bog‘liq. AQShning Nyu-York hududida olib borilgan katta hajmdagi tadqiqotlarni kuzatadigan bo‘lsak, bunda olma mevalaridan yuzlab izolyatlar yig‘ilib, ularning bir qismi morfologik guruhlarga ajratilgan va keyinchalik ko‘p-lokusli filogenetik tahlil yordamida tur darajasida identifikatsiya qilingan. Olma mevalaridan *Colletotrichum* izolyatlarini ajratish bo‘yicha adabiyotlarda turli geografik hududlarda turli *Colletotrichum* turlari aniqlangani qayd etilgan. Shu jumladan, Janubiy

Koreyada o‘tkazilgan tadqiqotda kasallangan olma mevalaridan izolyatsiya qilingan shtammlar morfologik belgilar, o‘sish xususiyatlari va ko‘p-lokusli ketma-ketlik ma’lumotlari asosida aniqlangan [4].

Materiallar va usullar

Tadqiqot materiali va namuna yig‘ish

Tadqiqot materiali sifatida kasallik belgilari kuzatilgan olma mevalari hamda barglari olindi. Namuna yig‘ish jarayonida chirigan yoki nekrotik belgilari mavjud mevalar hamda barglar tanlanib, laboratoriyaga alohida maxsus idishlarda olib kelindi. Har bir namuna uchun kelib chiqish hududi, yig‘ilgan sana, xo‘jayin o‘simlik va kuzatilgan kasallik belgilari qayd etildi.

Zamburug‘larni ajratish

Kasallangan olma barglari va mevalaridan zamburug‘larni ajratish uchun namunalar 2 soat oqar suvda yuvildi va keyinchalik distillangan suv bilan yana qayta yuvildi. Tayyorlangan namunalar filtr qog‘ozi joylashtirilgan Petri idishlariga qo‘yilib, 28 °C haroratda 72 soat davomida inkubatorda inkubatsiya qilindi. Inkubatsiya jarayonida namunalar yuzasida hosil bo‘lgan zamburug‘ mitseliylari va sporulyatsiya belgilari kuzatildi. Rivojlangan zamburug‘ koloniyalari keyingi bosqichda sof kulturani ajratish hamda morfologik va molekulyar-genetik identifikatsiya qilish uchun foydalaniladi.

Ekish va kultivatsiya qilish

Sterillangan to‘qima bo‘laklari filtr qog‘ozida quritilib, tarkibida bakteriyalarga qarshi streptomitsin (50 mg/L) saqlovchi Kartoshka-Dekstroza Agar (KDA) muhitiga o‘tkaziladi. Petri idishlari inkubatorda 25-28 °C haroratda 4-7 kun davomida saqlanadi.

Sof kulturalarni olish

O‘simlik barglarida o‘sib chiqqan zamburug‘ gifalari steril igna yordamida yangi KDA idishlariga ko‘chiriladi. O‘sib chiqqan zamburug‘ koloniyalari muntazam kuzatib borildi. Birlamchi koloniyalar orasidan morfologik jihatdan *Colletotrichum*ga o‘xshash koloniyalardan kichik mitseliy bo‘lagi olinib, yangi KDA ozuqa muhitiga qayta ekildi. Bu jarayon bir xil morfologik xususiyatga ega sof kultura hosil bo‘lguncha davom ettiriladi, ya’ni, bir xil va monospora izolyat holiga kelguncha bu jarayon takrorlanadi.

Tadqiqot natijasi va muhokama

Ilmiy izlanish davomida *Colletotrichum* turkumi zamburug‘larini kasallangan olma daraxtlarining to‘qimalaridan ajratish va monokonidial izolyatlari olinadi, ajratib olingan izolyatlar mikroskopik va molekulyar-genetik identifikatsiya qilinadi. *Colletotrichum* izolyatlarining koloniyalari turga va izolyatga qarab oq, kulrang, och kulrang, zaytunsimon yoki to‘q kulrang ranglarda bo‘lishi mumkin. Ayrim izolyatlarda nazar tashlaydigan bo‘lsak, koloniya markazida to‘q pigmentatsiya va konsentrik zonalar kuzatiladi. Kasallangan olma mevasida *Colletotrichum* infeksiyasi ko‘pincha yumaloq yoki biroz cho‘zinchoq, botiq, jigarrangdan to‘q ranggacha bo‘lgan nekrotik dog‘lar bilan namoyon bo‘ladi. Nam sharoitda sporalarining strukturalari hosil bo‘lib, konidial massa ko‘rinishi kuzatiladi. Biroq, bunday belgilarni faqat ko‘z bilan baholash tur darajasida ishonchli identifikatsiya uchun yetarli emas. Bu belgilar zamburug‘li kasallik jarayoni bilan mos kelishi mumkin, biroq faqat tashqi simptomlarga asoslanib *Colletotrichum* turkumini tasdiqlash mumkin emas. Oxirgi aniq xulosa sof kultura va keyingi morfologik hamda molekulyar identifikatsiya natijalari asosida chiqariladi. Mikroskopik tekshirishda preparatlar tayyorlanadi va mitseliy, konidiofor, konidiya va appressoriylarning mavjudligi hamda shakli kuzatiladi. *Colletotrichum* vakillarida konidiyalar odatda rangsiz, bir hujayrali, silliq devorli bo‘lib, ko‘pincha silindrsimon, tuxumsimon yoki biroz duksimon shaklga ega bo‘ladi. Sof kultura olingach, koloniya diametri, ranglanishi, pigment hosil qilishi, spora hosil qilishi, konidiya shakli va o‘lchami kabi belgilar qayd etiladi. Ushbu ma’lumotlar keyinchalik molekulyar natijalar bilan birlashtirilib, izolyatning kompleks identifikatsiyasi amalga oshirilishida muhim ahamiyat kasb etadi. Chunki, bir namuna tarkibida bir nechta zamburug‘ yoki boshqa mikroorganizmlar mavjud bo‘lishi mumkin.

DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010006

Xulosa

Olib borilgan tadqiqotlar va ilmiy adabiyotlar tahlili asosida kasallangan olma namunalaridan *Colletotrichum* turkumiga mansub zamburug‘larni ajratib olishda kasallangan to‘qimalardan sof kultura olish va KDA oziqa muhitidan foydalanish samarali yondashuvlardan biri ekanligi aniqlandi. Ajratilgan kulturalarni morfologik jihatdan baholashda koloniya rangi, mitseliy zichligi, o‘sish xarakteri, konidiyalarning shakli va o‘lchami hamda appressoriylarning morfologik xususiyatlari muhim diagnostik belgilar hisoblanadi. *Colletotrichum* turkumining ayrim vakillari morfologik jihatdan bir-biriga juda yaqin bo‘lganligi sababli, morfologik identifikatsiya natijalarini molekulyar ma’lumotlar bilan tasdiqlash maqsadga muvofiqdir. Umuman olganda, kasallangan olma namunalaridan *Colletotrichum* izolyatlarini ajratish va identifikatsiya qilish mahalliy fitopatogen zamburug‘lar xilma-xilligini o‘rganish, kasallik qo‘zg‘atuvchilarini aniqlash hamda olma yetishtirishda biologik va agrotexnik himoya choralarini takomillashtirish uchun muhim ilmiy-amaliy ahamiyatga ega.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Arie T. et al. Functional genomics and molecular approaches to understanding fungal pathogenicity. (Review literature). 18 page.
2. Botir Achilovich Hasanov – Mikologiya. Toshkent – 2019. 34-bet.
3. Jayawardena R.S., Hyde K.D., Chen Y.J. et al. *Identification and characterization of Colletotrichum species associated with anthracnose diseases*. — Fungal Diversity, 2016.
4. Kim C.H., Hassan O., Chang T. Diversity, Pathogenicity, and Fungicide Sensitivity of Colletotrichum Species Associated with Apple Anthracnose in South Korea. Plant Disease. 2020;104(11):2866–2874. DOI: 10.1094/PDIS-01-20-0050-RE. 15 page.