



**КЫРГЫЗ-ТҮРК «МАНАС» УНИВЕРСИТЕТИ
ТАБИГЫЙ ИЛИМДЕР ИНСТИТУТУ
ӨСҮМДҮКТӨРДҮ КОРГОО БАГЫТЫ**

**МӨМӨ ДАРАКТАРЫНЫН БАКТЕРИЯ КҮЙҮК
ИЛДЕТИН ЧАКЫРГАН ПАТОГЕНДИ (*ERWINIA
AMYLOVORA*) ИДЕНТИФИКАЦИЯЛОО ЖАНА АГА
КАРШЫ БИОЛОГИЯЛЫК АГЕНТТЕРДИ
КОЛДОНУУ**

МАГИСТРДИК ДИССЕРТАЦИЯ

Даярдаган

Тынчтыкгүл БАКЫТОВА

Жетекчиси б.и.д.,

Проф, док. Тинатин ДӨӨЛӨТКЕЛДИЕВА

декабрь, 2018

КЫРГЫЗСТАН/БИШКЕК

КЫРГЫЗ-ТҮРК «МАНАС» УНИВЕРСИТЕТИ
ТАБИГЫЙ ИЛИМДЕР ИНСТИТУТУ
ӨСҮМДҮКТӨРДҮ КОРГОО БАГЫТЫ

МӨМӨ ДАРАКТАРЫНЫН БАКТЕРИЯ КҮЙҮК
ИЛДЕТИН ЧАКЫРГАН ПАТОГЕНДИ (*ERWINIA*
***AMYLOVORA*) ИДЕНТИФИКАЦИЯЛОО ЖАНА АГА**
КАРШЫ БИОЛОГИЯЛЫК АГЕНТТЕРДИ
КОЛДОНУУ

МАГИСТРДИК ДИССЕРТАЦИЯ

Даярдаган

Тынчтыкгүл БАКЫТОВА

Жетекчиси б.и.д.,

Проф, док. Тинатин ДӨӨЛӨТКЕЛДИЕВА

декабрь, 2018

КЫРГЫЗСТАН/БИШКЕК

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı SOYADI: Tınçtıkgül BAKİTOVA

İmza:

ПЛАГИАТ ЖАСАЛБАГАНДЫГЫ ТУУРАЛУУ БИЛДИРҮҮ

Мен бул эмгекте алынган бардык маалыматтарды академиялык жана этикалык эрежелерге ылайык колдондум. Тагыраак айтканда, бул эмгекте колдонулган, бирок мага тиешелүү болбогон маалыматтардын бардыгын тиркемеде так көрсөттүм жана эч кайсы жерден плагиат жасалбагандыгына ынандырып кетким келет.

Аты жөнү: Тынчтыкгүл БАКЫТОВА

Колу:

YÖNERGEYE UYGUNLUK

“Meyve ağaçlarında ateş yanıklığı patojeninin (*Erwinia amylovora*) tanımlanması ve biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması” adlı Yüksek Lisans Tezi, Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazım Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi hazırlayan

Tınçtıkgül BAKITOVA

İmza:

Danışman: Prof. Dr. Tinatin

DÖÖLÖTKELDİEVA

İmza:

Bitki Koruma ABD Başkanı

Prof. Dr. Tinatin DÖÖLÖTKELDİEVA

İmza:

ЭРЕЖЕЛЕРГЕ БАШ ИЙҮҮ

«Мөмө дарактарынын бактерия күйүк илдетин чакырган патогенди (*Erwinia amylovora*) идентификациялоо жана ага каршы биологиялык агенттерди колдонуу» аттуу магистрдик иш, Кыргыз-Түрк «Манас» университетинин магистрдик диссертация долбоору жана диссертацияны жазуу эрежелерине туура келгендей болуп даярдалды.

Даярдаган:

Тынчтыкгүл БАКЫТОВА

Колу:

Илимий жетекчи:

б.и.д.,проф Тинатин

ДӨӨЛӨТКЕЛДИЕВА

Колу:

Өсүмдүктөрдү Коргоо Бөлүмүнүн Жетекчиси

Проф, док. Тинатин ДӨӨЛӨТКЕЛДИЕВА

Колу:

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Tinatin Döölötkeldieva danışmanlığında Tınçtıkgül tarafından hazırlanan “Meyve ağaçlarında ateş yanıklığı patojeninin (*Erwinia amylovora*) tanımlanması ve biyolojik mücadele olanaklarının araştırılması” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Kırgızistan-Türkiye Manas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

/ /2018

JÜRİ:

Danışman	Prof. Dr. Tinatin DÖÖLÖTKELDİEVA	
Jüri başkanı	Prof. Dr. Bekmamat CEENBAEV	
Üye	Prof. Dr. Hüseyin GÖÇMEN	
Üye	Camibek DERBİŞALİEV	
Yedek üye	Dr. Mahabat KONURBAEVA	
Yedek üye	Dr. Saykal BOBUŞEVA	

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun 13/12/2018 tarih ve 2018/08/34 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

/ /2018

Doç. Dr. Dağıstan ŞİMŞEK

Enstitü Müdürü

КАБЫЛ АЛУУ ЖАНА ЧЕЧИМ

Б.и.д., профессор Тинатин Дөөлөткелдиева жетекчилигинде Тынчтыкгүл Бакытова тарабынан даярдалган «Мөмө дарактарынын бактериалдык күйүк илдетин чакырган патогенди (*Erwinia amylovora*) идентификациялоо жана ага каршы биологиялык агенттерди колдонуу» темасындагы магистрдик иш комиссия тарабынан Кыргыз-Түрк «Манас» университетинин Табигый илимдер институтунун Өсүмдүктөрдү коргоо багытында магистрдик иш болуп кабыл алынды.

/ /2018

Комиссия:

Илимий жетекчи:	б.и.д., проф. Тинатин Дөөлөткелдиева	
Төрагасы:	б.и.д., проф. Бекмамат Жээнбаев	
Мүчө:	б.и.д., проф. Хусеин Гочмен	
Мүчө:	Жаныбек Дербишалиев	
Мүчө:	Док. Махабат Конурбаева	
Мүчө:	Док. Сайкал Бобушева	

ЧЕЧИМ:

Бул магистрдик иштин кабыл алынышы Институт башкаруу кеңешинин 13/12/2018 датасында жана 2018/08/34 санындагы чечими менен бекитилди.

/ /2018

Доц. Др. Дагыстан Шимшек

Институт Мүдүрү

АЛГАЧ СӨЗ

Билим алуумда салымы чоң, магистрдик диссертациямды даярдоодо мага жардамын жана ой-пикирлерин аябаган илимий жетекчим б.и.д., профессор Тинатин Дөөлөткелдиева эжейиме терең ыраазычылыгымды билдирем. Айыл чарба факультетинин жалпы мугалимдер жамаатына жана кызматкерлерине дагы терең ыраазычылыгымды билдирем. Өзгөчө, магистрдик диссертациямды даярдоо учурунда мага дайыма колдоо көрсөткөн, ата-энеме жана бир туугандарыма терең ыраазычылыгымды билдирем.

Тынчтыкгүл Бакытова

Бишкек, Декабрь , 2018

**МӨМӨ ДАРАКТАРЫНЫН БАКТЕРИЯ КҮЙҮК ИЛДЕТИН ЧАКЫРГАН
ПАТОГЕНДИ (*ERWINIA AMYLOVORA*) ИДЕНТИФИКАЦИЯЛОО ЖАНА
АГА КАРШЫ БИОЛОГИЯЛЫК АГЕНТТЕРДИ КОЛДОНУУ**

ТЫНЧТЫКГУЛ БАКЫТОВА

**КЫРГЫЗ-ТҮРК «МАНАС» УНИВЕРСИТЕТИ, ТАБИГЫЙ ИЛИМДЕР
ИНСТИТУТУ**

МАГИСТРДИК ДИССЕРТАЦИЯ, ДЕКАБРЬ 2018

ИЛИМИЙ ЖЕТЕКЧИ: б.и.д.,проф ТИНАТИН ДӨӨЛӨТКЕЛДИЕВА

КЫСКАЧА МАЗМУНУ

Акыркы жылдары бүткүл дүйнөдө ошондой эле Кыргызстанда кеңири таралган мөмө-жемиш бактарын, анын ичинен өзгөчө алмуруттун сортторун зыянга учуратып жаткан карантиндик бактериалдык күйүк илдет козгогучун кожоюн өсүмдүктөрдөн бөлүп алуу, биологиясын изилдөө жана интеграциялык оптималдуу күрөшүү чараларын иштеп чыгуу маанилүү маселелердин бири. Айлана-чөйрөнү бузуучу кеңири колдонулуп жаткан химиялык препараттарды чектөө, илдетке каршы биологиялык коргоо иш-чараларын жүргүзүү, алардан толук кандуу арылуу - негизги максатыбыз.

Биз максатыбызга ылайык илдетке чалдыккан алмуруттун сортторунан бактериалдык күйүк илдет козгогучу бөлүнүп алынды. Стандарттык ачкычтарга таянып лабораторияда идентификацияланды, ошондой эле геному изилденди.

Илдет козгогуч так аныкталгандан кийин Кыргызстанда өстүрүлгөн алмуруттун ар кандай сортторуна бактериалдык күйүк илдети менен

лабораториялык шартта жасалма жугуштуруу иштери жасалды. Алмуруттун (Лесная красавица, Майская, Факел, Старкимсон, Семереченская красавица, Красивая, Диканка) сорттору колдонулду. Алынган сорттордун жабыркоо денгээлине жараша диаграмма түзүлүп, таблица түрүндө көрсөтүлдү. Алмуруттун ар кандай сортторунун бактериалдык күйүгүнө Фитопатология лабораториясында өндүрүлгөн биологиялык препарат (*Streptomyces* уруусундагы) менен чачыратуу иштерин жүргүзүп, илдеттен арылуунун жолу иштелип чыкты.

Жыйынтыгында биологиялык препараттардын айлана-чөйрөгө зыян алып келбеген химиялык препараттардын альтернативасы жана илдеттен арылууга болот деген кортунду чыгардык.

Ачкыч создор: *Erwinia amylovora*, алмурут, бактериалдык күйүк, изилдөө, биологиялык активдүүлүк, биологиялык коргоо, антагонист.

**MEYVE AĞAÇLARINDA ATEŞ YANIKLIĞI PATOJENİNİN (*ERWINIA*
AMYLOVORA) TANIMLANMASI VE BİYOLOJİK MÜCADELE
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

TINÇTIKGÜL BAKITOVA

**KIRGIZİSTAN-TÜRKİYE MANAS ÜNİVERSİTESİ, FEN BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 2018

DANIŞMAN: Prof. Dr. TİNATİN DÖÖLÖTKELDİEVA

GENİŞ ÖZET

Araştırma amacı: Son yıllarda Dünyada, aynı zamanda Kırgızistanda meyve ağaçları özellikle armut türü ağaçlar ciddi bir şekilde bakteriyolojik ateş yanıklığı hastalığından zarar görmektedir. Bu ateş yanıklığı hastalığına neden olan patojenleri çiftçi tarafından sağlıklı ağaçlardan ayırmak, biyolojik mücadele yapmak ve söz konusu hastalığa karşı entegre mücadele yolları ortaya koymak önemlidir.

Çevreyeye zararlı olmasına rağmen günlük hayatta çok kullanılan kimyasal preparatları sınırlamak ve ateş yanıklığına karşı biyolojik mücadele faaliyetleri düzenlemek ve sonuç olarak söz konusu hastalıktan korunmak temel amacımızdır.

***Erwinia amylovora* (Burrill) tanımı:** *E. amylovora*, Rosaceae familyasının Malus ve Pyrus cinslerinin yanında 37 cinsi ve 128 türü enfekte etmekte, özellikle armut, ayva ve elmalarda çok zararlı olmaktadır. Ayrıca yenedünya ve muşmula ağaçlarında da ciddi enfeksiyonlar oluşturmaktadır. İlk kez ABD de görülen hastalık

Kanada, Yeni Zelanda, Meksika, İngiltere, Hollanda, Polonya, Danimarka, Belçika, Fransa, Almanya, Mısır, Güney ve Kuzey Kıbrıs, İsrail, İsveç, Norveç, İrlanda, Yunanistan, Lübnan, İsviçre, Ermenistan, Bulgaristan, İtalya gibi birçok ülkede mevcuttur. Ülkemizde ise, 2008-2009 yılında saptanmış olup, günümüzde Kırgızistan'ın hemen her bölgesine yayılmış durumdadır.

Biyolojisi. Kışı enfekteli konukçu bitki artıklarında geçirir. Kurumuş kanser dokuları ve yara kabukları baharda çiçek enfeksiyonu için birincil derecede önemli yayılma ve bulaşma kaynağıdır. Bakteri bitkiye doğrudan çiçeklerden, doğal açıklıklardan (stoma, lentisel ve hidatod) veya yaralardan giriş yapar. Böceklerle, rüzgâr veya yağmur yardımıyla taşınır.

Tespit ve tanımlama. Hastalığın isminden de anlaşıldığı gibi en tipik belirtisi, enfekteli bitki aksamının ateşten yanmış bir görünüm almasıdır. Nemli havalarda bu enfekteli kısımlarda krem rengi sütümsü bir akıntı oluşur ve bu akıntı, kuruduğunda elmada amber rengi, armutta ise kahverengine dönüşmektedir. Bu akıntı, hastalık etmeninin en karakteristik işaretidir. İlk belirtiler genellikle tek bir çiçek veya tüm çiçek demetinde görülür. Başlangıçta enfekteli kısımlar suda haşlanmış gibi bir görünüm alır, solar, büzülür kahverengileşir, zamanla siyahlaşarak ateşte yanmış gibi bir görünüm alır. Enfeksiyon çiçek tablasına doğru ilerler ve çiçek tablası koyu yeşil renkte, suda haşlanmış gibi bir görünüm alır (Şekil a) Çiçek enfeksiyonunu, genç meyve enfeksiyonları takip eder (Şekil b). Hastalık ilerledikçe tüm sürgün, ana dallar ve gövdeye kadar enfeksiyon yayılabilir (Şekil c-j). Taze sürgünler enfekte olduğunda siyahlaşır ve uç kısımları geriye doğru 180 derece kıvrılır. Bu belirti "Çobandeğneği" olarak adlandırılır. Dal ve gövdelerde enfekteli kısımlardaki dokular içeriye doğru çöker ve başlangıçta kırmızımsı- kahverengi bir hal alır. Koşullar uygun olduğunda yine bu kısımlarda bakteriyel akıntılar oluşur. Hastalıklı kısımlarda kabuk bir bıçakla kaldırıldığında, kabuk dokusunun kahverengileştiği ve bu kahverengileşmenin sağlam doku içerisine doğru ilerlediği görülür

Materyal ve Yöntem (Metod).

Araştırmacıların çoğu literatürde biyolojik kontrol ve bitkinin büyüme stimulyatoru olarak üst aktiv mikroorganizm-antagonisleri ve entomopotojenleri kullanmak oldukça önemlidir, yanı sıra komplekstik etki veriyor, çoğu zaman mantar ilaçları ve entomopotojenleri

affekt gösterimi biopestisidlere bireysel olarak odaklanmak lazım. Yanısıra patent ile çevrilmiş çok ştammları biolojik üretim kadar etkili karanlıkların arasından çok önerilmiştir. Ama seri üretim teknolojisi Kırgızistan'ın koşullarında zayıf gelişiyor olduğundan bu işi yapmak da çok sorunların çözülmesi lazım.

Böyle yüksek aktiviteli mikroorganizma-antagonisleri ve entomopotojenleri kullanmak önemli bir rol oynamıştır. Aktinomisetlerin içerisinde *Streptomyces* ailesi tarafından üretilen bir antibiyotik çok önemlidir. Yüksek anti bakteriyel ve fungal antagonistik özellikleri *Streptomyces* cinsinden vermiş olduğu özellikleri çok yüksektir. Ayrıca özelliklerinin biostimulyatorduk ve bu yüzden tarım alanı var mahsul koruma fitopatogenderden en önemli ajanlardan biridir, bir rüya olmaya devam etmektedir.

Bu amacı gerçekleştirmek için deneme aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi.

1. Gıda çevrelerinde en yaygın *Erwinia amylovora* hastalık patojeni tespit etmek için King B, Levan ve EPA kullanıldı getirilen örnekler distire suyla yıkandı, dış mikroplarından arıtıldı. Hazır olan örnekler Petri kabına dizildi. 7 gün inkubatörde üretildi.
2. *Erwinia amylovora* bakterisinin normal büyüme ortamını sağlamak için secimi.
3. Uayt (Waite M B) bilim insanın önerisi ile termostatta üretilen bakterilerin identifikasyonu gerçekleştirildi.
4. Laboratuvar ortamında *Erwinia amylovora* hastalığı yapay yöntem ile meyveye bulaştırmasıyla onların patojenik irkin belirlemek.
5. Bu enfeksiyonlara karşı antagonist-mikroorganizmaları bulundu ve onlarla laboratuvar ve tarla şartlarında biyolojik mücadele yapıldı.
6. *Erwinia amylovora* patojenlerinin DNA ları izole edildi.
7. Entegre mücadele yönteminin kullanımı ile ilgili önerileri sunuldu.

İlk çalışmamızda armut çeşitlerinden bakteriyolojik yanık hastalığını bulaştıran mikrobları ayırdık. Laboratuvar çalışmalarında belirlenip DNA *DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Germany)* kiti kullanarak bakteri üzerinde araştırma yapıldı. Ateş yanıklığı hastalığına neden olan mikroplar belirlendikten sonra, Kırgızistanda yetiştirilen 3-6 cm olan armut çeşitlerine laboratuvar ortamında yanık hastalığı yapay bulaştırma çalışması yapıldı. Bu çalışmada (Lesnaya krasavisa, Mayskaya, Fakel, Starkimson, Semereçenskaya krasavisa, Krasivaya, Dikanka) armut çeşitleri kullanıldı.

Armut çeşitlerinin zarar görme seviyesine göre diagram yapıldı ve tablo şeklinde gösterildi. Kontrol olarak her bir türden 1 armut meyvesine su kullanıldı.

Armut çeşitlerine Fitopatoloji laboratuvarında üretilmiş olan biyolojik ilaç (*Streptomyces* cinsinden olan) antagonistleri kullanarak, sprey yardımıyla püskürtme tedavi çalışmaları yapıldı. Bu şekilde patojenle mücadele yöntemleri ortaya konuldu.

Sonuç olarak

- ✓ Patojen hava sıcaklığı 18°C ye yükseltildikten sonra botanik bahçesi ve tarımsal uygulamalar alanlarında toplanan örneklerde gözlenmiştir
- ✓ Örneklerden hastalığı tespit etmek için besin agarına ekildi, UAIT ve Ryu teknikleri kullanıldı
- ✓ Laboratuvarda patojenite testleri gerçekleştirildikten 2 gün sonra nekroz noktaları ve eksudat çıktığı görüldü
- ✓ *Erwinia amylovora*'nın saf kültürünün belirlenmesinde dünyanın standart anahtarları kullanarak % 90 bakteriyel olduğunu kanıtladı
- ✓ *Streptomyces* SK-6 ve *Streptomyces* TR -5-9 antagonistleri armutun bakteriyel yanık hastalık etmenine karşı kullanılabilecek biyopreparat olarak kullanılabileceği ortaya konuldu
- ✓ Bakteriyel yanık hastalığına karşı bu biyopreparatların yaz aylarında, yaprakların ve çiçeklerin açtığı zamanda, hastalığın symptomu yeniden başlayıp görülmeye başladığında, sıcaklık 18-23°C aralığında yürütülüp her 10 günde 3 defa tekrarlanan püskürtme ile o hastalığın kontrolünün başarıyla sağlandığı görüldü
- ✓ Çevreye zararı olmayan biyolojik ilaç üretimini arttırmak ve söz konusu ilaçların yardımıyla bakteriyel hastalığıyla başarıyla mücadele edileceği ortaya konuldu

Anahtar kelimeler: *Erwinia amylovora*, armut, ateş yanıklığı, laboratuvar, biyolojik mücadele.

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕНА (*ERWINIA AMYLOVORA*)
БАКТЕРИАЛЬНОГО ОЖОГА ФРУКТОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ И ПОИСК
БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С НИМИ**

ТЫНЧТЫКГУЛ БАКЫТОВА

КЫРГЫЗСКО-ТУРЕЦКИЙ УНИВЕРСИТЕТ «МАНАС»

ИНСТИТУТ ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

МАГИСТЕРСКАЯ РАБОТА, 2018

**НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ: проф.док, ТИНАТИН
ДООЛОТКЕЛДИЕВА**

АННОТАЦИЯ

Цель исследования: В последние годы во всем мире, в частности и в Кыргызстане широко распространились заболевания растений. Выделение возбудителя карантинного бактериального ожога, причиняющего вред фруктовым деревьям, в особенности сортам груши. Для подтверждения наличия возбудителя требуется исследовать биологию растения и разработка интеграционных оптимальных мер по борьбе с вредителями .

Наши основные цели: ограничение широко используемых химических препаратов, которые наносят вред окружающей среде, проведение различных мероприятий биологической защиты против вредителей, избавление от них в полной мере.

В лабораторных условиях удалось отличить бактерии из рода *Erwinia*, идентифицировать и исследовать их ДНК. В следующем шаге нашего анализа брали несколько сортов груши, выращиваемых в разных регионах Кыргызстана. Искусственным путем наносили возбудителей бактериального ожога. На фруктовые деревья, для этого анализа были использованы такие сорта груш

(Лесная красавица, Майская, Факел, Старкимсон, Семереченская красавица, Красивая, Диканка). Определяли степень чувствительности сортов путем опрыскивания наносили биопрепарат (на основе *Streptomyces*), который разработан в лабораториях отделения защиты растений Кыргызского Турецкого университета Манас.

Результаты исследования показали, что против бактериального ожога можно использовать биологические препараты, которые не наносят вред окружающей среде.

Ключевые слова: *Erwinia amylovora*, груша, бактериальный ожог, диагностика, биологическая активность, биологическая защита, антагонист.

**IDENTIFICATION OF FIRE BLIGHT PATHOGEN (*ERWINIA AMYLOVORA*)
OF FRUIT TREES AND SEARCH FOR ACTIVE BIOLOGICAL AGENTS IN
THE PROTECTION**

TYNCHTYKGUL BAKYTOVA

**KYRGYZISTAN-TURKEY MANAS UNIVERSITY, GLADUATE SCHOOL of
NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

MASTER THESIS, DECEMBER 2018

SUPERVISOR: Prof, Dr. TINATIN DOOLOTKELDIEVA

ABSTRACT

The purpose of the study: in recent years all over the world, particularly in Kyrgyzstan, plant diseases are widespread. Pathogen separation of quarantine bacterial blights, that harm fruit trees, especially pear varieties. To confirm the presence of pathogen, it is required to investigate their biology and the development of integrative optimal measures for pests control.

Our main purposes was: to restrict the widely used chemicals, that harm the environment, conduct various biological defense measures against pests, and get rid of them fully.

In laboratory conditions it is possible to distinguish bacteria from the genus, *Erwinia* identify the extent of fire blight and examine their DNA. In the next step of our analysis we took several varieties of pears, grown in different regions of Kyrgyzstan. We artificially cause the of bacterial blight. For this analysis were used such types of pears, as (Lesnaya Krasavitsa, Maiskaya, Fakel, Starkimson, Semirechenskaya Krasavitsa, Krasivaya, Dikanka). By spraying the bioproduct of the

drug(*Streptomyces* was applied), which was developed in the laboratories of plant protection Department Kyrgyz-Turkish University «Manas».

As a result, we proved, that it is possible to get rid of a bacterial burn by using biological preparations, that don't harm the environment .

Key words: *Erwinia amylovora*, pear, bacterial burn, diagnostics, biological activity, biological protection, antagonist.

МАЗМУНУ

МӨМӨ ДАРАКТАРЫНЫН БАКТЕРИАЛДЫК КҮЙҮК ИЛДЕТИН ЧАКЫРГАН ПАТОГЕНДИ (*ERWINIA AMYLOVORA*) ИДЕНТИФИКАЦИЯЛОО ЖАНА АГА КАРШЫ БИОЛОГИЯЛЫК АГЕНТТЕРДИ КОЛДОНУУ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
ПЛАГИАТ ЖАСАЛБАГАНДЫГЫ ТУУРАЛУУ БИЛДИРҮҮ	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK	iii
ЭРЕЖЕЛЕРГЕ БАШ ИЙҮҮ	iv
KABUL VE ONAY	v
КАБЫЛ АЛУУ ЖАНА ЧЕЧИМ	vi
АЛГАЧ СӨЗ	vii
КЫСКАЧА МАЗМУНУ	viii
GENİŞ ÖZET	x
АННОТАЦИЯ	xiv
ABSTRACT	xvi
МАЗМУНУ	xviii
ШАРТТУУ КЫСКАРТУУЛАР	xxi
ЖАБЫДАЛДАРДЫН ТИЗМЕСИ	xxii
СҮРӨТТӨРДҮН ТИЗМЕСИ	xxiv
ДИАГРАММАЛАРДЫН ТИЗМЕСИ	xxvi
Кириш сөз	1

1-БӨЛҮК

АДАБИЯТ-МААЛЫМАТТЫК ТАЛДОО

1.1. Кыргызстанда өстүрүлгөн мөмө-жемиш өсүмдүктөрүндө кенири таралган бактерия күйүк илдетинин тарыхы жана географиялык таралуусу жөнүндө маалыматтар	3
1.2. Бактерия күйүк илдетин козгогон патогендин биологиялык өзгөчөлүгү, илдеттин симптомдору, пайда болуу мөөнөттөрү жана таралышы	6
1.2.1. Илдеттин таралышы	8

1.2.2. Мөмө дарактарынын күйүк илдети менен жабыркоо белгилери.....	9
1.3. <i>Streptomyces</i> уруусундагы бактериялардын жалпы мүнөздөмөсү.....	9
1.3.2. <i>Streptomyces</i> уруусундагы бактериялар бөлүп чыгарган антибиотик заттары, алардын мүнөздөмөлөрү.....	13
1.3.3. Өсүмдүк коргоо тармагында колдонулган антибиотиктердин түрлөрү жана өзгөчөлүктөрү	17

2 - БӨЛҮК

МАТЕРИАЛДАР ЖАНА МЕТОДИКАЛАР

2.1. Изилдөө мекемеси жана үлгүлөрдү даярдоо	20
2.2. <i>Erwinia amylovora</i> культурасын бөлүп алуу ыкмалары.....	20
2.2.1. <i>Erwinia amylovora</i> бактериясынын нормалдуу өсүшүн камсыздоочу чөйрөлөрдү даярдоо ыкмалары	22
2.3. Антагонист микроорганизмдерди өстүрүү үчүн колдонулган чөйрөлөр	23
2.4. Морфологиялык жана культуралдык ыкмалар.....	24
2.5. <i>Erwinia amylovora</i> бактериясынын молекулалык - биохимиялык касиеттерин изилдөө ыкмалары.....	25
2.5.1. ПЧР методу менен <i>E. amylovora</i> илдет козгогучун идентификациялоо	25
2.5.2. Кыймылдуулугун аныктоо.....	26
2.5.3. <i>E. amylovora</i> бактериясынын лабораториялык шартта гиперсезгичтүүлүгүн аныктоо реакциясы	27
2.5.4. Лабораториялык шартта <i>E. amylovora</i> бактериясы алмуруттун ар кандай сортторуна патогендүүлүк тести.....	27
2.5.5. Ар түрдүү температурада өсүүсүн аныктоо.....	28
2.5.6. Физиологиялык жана биохимиялык касиетин аныктоодо колдонулган ачкычтар	29
2.6. <i>Streptomyces</i> уруусуна кирген актиномицеттин штамдарынан лабораториялык шартта суспензия даярдоо ыкмалары.....	29
2.7. <i>E. amylovora</i> бактериалдык күйүк илдетине каршы тажрыйба талаасында биологиялык агенттерди эффективдүүлүгүн аныктоо ыкмалары	30
2.7.1. Илдетке чалдыккан алмурут көчөттөрүн антагонистер менен чачыратуу	31
2.7.2. Алма жана алмурут көчөттөрүнүн жалбырактарында антагонистердин кармалуу узактыгын аныктоо	31

3-БӨЛҮК	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛДЫК БӨЛҮК	
ӨЗДҮК ИЗИЛДӨӨЛӨР ЖАНА ЖЫЙЫНТЫКТАР	
3.1. Илдет козгогучту бөлүп алуу ыкмасы.....	34
3.2. ПЧР методу менен <i>E. amylovora</i> илдет козгогучун идентификациялоо	39
3.3. <i>E. amylovora</i> бактериясынын лабораториялык шартта гиперсезгичтүүлүгүн аныктоо.....	41
3.4. <i>E. amylovora</i> бактериалдык күйүк илдетине каршы тажрыйба талаасында биологиялык агенттерди эффективдүүлүгүн аныктоо ыкмалары	48
3.4.1. Бактериалдык күйүк илдетине каршы биологиялык агенттерди табуу .	48
3.4.2. Биопрепаратты даярдоо ыкмалары	49
3.4.3. Ферментацияланып жаткан биопрепараттын сапатын текшерүү	50
3.5. Лабораториялык шартта <i>Erwinia amylovora</i> бактериясын жасалма жугузуу менен мөмөгө киргизүү же Уайт ыкмасы	58
3.6. Алмуруттун бактериалдык күйүк илдеттерине каршы интеграциялык ыкмалар	63
3.6.1. Алмуруттун бактерия күйүгүнө каршы механикалык ыкмаларды колдонуу	63
КОРУТУНДУЛАР.....	64
КОЛДОНУЛГАН АДАБИЯТТАР	66
ӨМҮР БАЯН	69

ШАРТТУУ КЫСКАРТУУЛАР

Кыскартуулар	Мааниси
КТМУ .	Кыргыз-Түрк “Манас” Университет
ЭПШ	эт пептон шорпосу
ЭПА.	эт пептон агары
КАА	крахмал аммиак агары
ПЦР	Полимеразная цепная реакция
ж.б.	жана башка
ж.б.у.с.	жана башка ушул сыяктуу
ДНК	дезоксирибонуклеин кислотасы
ИФА	Иммуноферменттик анализ
м	метр
г/л	грамм, литр
км	километр
т.а.	тактап айтканда
мм	миллиметр
см	сантиметр
дист.суу	дистирленген суу

ЖАБЫДАЛДАРДЫН ТИЗМЕСИ

Жадыбал 1.1.1.	Бактериалдык күйүк илдетинин дүйнөлүк таралышы.....	4
Жадыбал 1.1.2.	Чүй областы боюнча бактериалдык күйүк илдетинин жабыркоо деңгээли.....	5
Жадыбал 2.2.1	Леван чөйрөсүнүн курамы.....	21
Жадыбал 2.2.2.	Кинг В чөйрөсүнүн курамы.....	21
Жадыбал 2.2.3.	ЭПА (эт пептон агары).....	22
Жадыбал 2.3.1.	КАА (крахмал-аммиак агары).....	22
Жадыбал 2.3.2.	Сулуу акшагынын агары.....	23
Жадыбал 2.5.1.	Илдетти аныктоодо дүйнөлүк стандарттагы ачкычтар.....	28
Жадыбал 3.1.1	Илдет козгогучтун азык-чөйрөдө өсүп чыгуу деңгээли	37
Жадыбал 3.3.1	Алмуруттун ар кандай сортторунун илдет козгогуч менен жабыркоосу.....	43
Жадыбал 3.3.2.	Бактериалдык күйүккө колдонулган дүйнөлүк стандарттык ачкычтар.....	46
Жадыбал 3.4.1.	Антагонисттердин суюк чөйрөлөрдө камтылган спорасын жана конидияларынын концентрациясын спектрофотометрде өлчөөдө алынган көрсөткүчтөр.....	49
Жадыбал 3.4.2.	Антагонисттер менен чачыратуу жана чачыратуудан кийинки аба- ырайы.....	51
Жадыбал 3.4.3.	Антагонисттер менен чачыратуу жана 2-чачыратуудан кийинки аба- ырайы.....	53
Жадыбал 3.4.4.	Илдет козгогуч менен чачыратууга чейинки жана андан кийинки жалбырактардын саны.....	55

СҮРӨТТӨРДҮН ТИЗМЕСИ

Сүрөт 1.1.1.	Ботаникалык бакчадан чогултулган үлгүлөр.....	6
Сүрөт 1.1.2.	<i>Erwinia amylovora</i> нын мөмөдөгү экссудат бөлүп чыгаруусу.....	8
Сүрөт 1.2.1.	А) <i>Streptomyces SK-6</i> жана <i>TR-5-9</i> штамдарынын колониясы Б) <i>Streptomyces SK-6</i> жана <i>TR-5-9</i> штамдарынын суюк суспензиясы.....	11
Сүрөт 1.2.2.	А) <i>Streptomyces bambargiensis SK-6 (1мл) штаммынын</i> + <i>Erwinia amylovora (5мл)</i> илдет козгогучун басып алышы (микроскоп астынан көрүнүшү).....	11
Сүрөт 1.2.3.	Кыргыз-Түрк “Манас” Университетинин, Айыл Чарба Факультетинин, Фитопатология лабораториясында сакталган <i>Streptomyces</i> уруусуна кирген актиномицеттердин штаммдардын коллекциясы.....	18
Сүрөт 2.5.1.	ПЧР анализин жүргүзүүчү амплификатор жабдыгы.....	25
Сүрөт 2.6.1.	Актиномициттерди бөлүп алуу ыкмасы.....	29
Сүрөт 3.1.1.	Гареев атындагы Ботаникалык бакчадан (а) жана Айыл-Чарба тажрыйба талаасынан (б) алынган үлгүлөр.....	33
Сүрөт 3.1.2.	Жалбырактарды шейкерде чайкоого даярдоо.....	34
Сүрөт 3.1.3.	А) Илдетке чалдыккан ткандан отургузулган үлгүлөр Б) Өсүп чыккан колониянын микроскоп астынан көрүнүшү.....	35
Сүрөт 3.1.4.	<i>Erwinia amylovora</i> бактериясынын ЭПА, Кинг Б жана Леван азык-чөйрөлөрүндө өсүп чыккан колониялары.....	36
Сүрөт 3.2.1.	<i>E. amylovora</i> диагностикалоодогу үч реакциядан кийин алынган 16 S r RNA генинин электрофорездик профилдери.....	38
Сүрөт 3.3.1.	Айыл чарба тааласынан тандалып алынган алмуруттун сорттору (сол жакта) жана жалбырактарды жасалма жугуштуруу учуру (оң жакта).....	40

Сүрөт 3.3.2.	Жасалма жол менен илдет козгогуч киргизилген алмуруттун сортторунун жалбырагынын жана сабагынын 7 күндөн кийинки абалы.....	41
Сүрөт 3.3.3.	Казеинди ажыратуусу	44
Сүрөт 3.3.4.	<i>Erwinia amylovora</i> бактериясынын спирттерди жана дисахариддерди кычкылдандыруусу.....	45
Сүрөт 3.4.1.	<i>Streptomyces</i> SK-6 жана <i>Streptomyces</i> TR-5-9 штамдары (сол жакта) жана алардын суюк суспензиясы (оң жакта).....	48
Сүрөт 3.4.2.	1 мл биопрепараттын курамындагы микроорганизмдин санын спектофотомердин жардамы менен аныктоо учуру.....	48
Сүрөт 3.4.3.	Антибиотиктер менен чачыратуу алдында алмуруттун абалы.....	50
Сүрөт 3.4.4.	Алмурут көчөттөрүнө биопрепарат чачыратуу мезгили.....	52
Сүрөт 3.4.5.	<i>Streptomyces</i> SK-6 жана <i>Streptomyces</i> TR-5-9 штамдарынын колонияларынын чачыратуудан 25 күн өткөндөн кийин алмурут көчөттөрүнүн жалбырактарынын айланасында өсүп чыгышы.....	52
Сүрөт 3.4.6.	<i>Streptomyces</i> SK-6 жана <i>Streptomyces</i> TR-5-9 штамдарынын колонияларынын чачыратуудан 25 күн өткөндөн кийин алмурут көчөттөрүнүн жалбырактарынын айланасында өсүп чыгышы.....	53
Сүрөт 3.4.7.	Алмуруттун жалбырагынан препарат даярдалып, микроскоп астынан көрүнүшү.....	54
Сүрөт 3.4.8.	Актиномициттер менен чачыратылгандан кийин илдет козгогучтан арылган алмуруттун көчөттөрү.....	56
Сүрөт 3.5.1.	<i>E. amylovora</i> илдет козгогучу менен жугушулган алмуруттун мөмөлөрү.....	58
Сүрөт 3.5.2.	Жугушулган мөмөлөрдүн 15 сааттан кийинки абалы.....	59
Сүрөт 3.5.3.	Бактериалдык күйүк менен жугушулган алмуруттун мөмөлөрү 3-4 күндөн кийинки агыш-боз жана күрөң экссудат бөлүп чыгарышы.....	60

ДИАГРАММАЛАРДЫН ТИЗМЕСИ

Диаграмма 3.3.1. Жалбырактын бактериалдык күйүк менен жабыркоосу.....42

Кириш сөз

Акыркы жылдары айыл-чарба өсүмдүктөрүнүн илдеттери жана зыянкечтери менен күрөшүүдө көбүнчө химиялык пестициддер жана фунгициддер колдонулууда. Пестициддер жана фунгициддерди колдонуунун коркунучтуу себеби- табигый душмандардын басандашына, зыяндуу организмдердин массалык түрдө өсүшүнө, пайдалуу курт-кумурскаларга, адам баласына башкача айтканда карата зыяндуулугу улам жыл өткөн сайын көрүнүүдө. Ошондуктан мындай учурда экологиялык абалды эске алуу менен зыяндуулукту азайтуу максатында интеграциялык күрөшүү системасын колдонуу зарыл. Интеграциялык ыкмаларды колдонуу максатка ылайыктуу, башкача айтканда зыянкечтердин жана илдеттердин зыяндуулугунун экономикалык босогосун эске алуу менен агротехникалык, физикалык, механикалык жана биологиялык ыкмаларды айкалыштырып колдонуу азыркы замандын талабына ылайыктуу келет. Интеграциялык ыкманын бирден бир маанилүү звеносу болуп өсүмдүктөрдү биологиялык жол менен коргоо эсептелинет. Бул - биологиялык тирүү организмдерди колдонуу менен илдет жана зыянкечтерди азайтуу же толугу менен жок кылуу.

Изилдөөчүүлөр көпчүлүк илимий адабияттарда, биологиялык контроль жана өсүмдүктүн өсүү стимулятору катары жогорку активдүүлүктөгү микроорганизм-антагонистерди жана энтомопатогендирди колдонуу маанилүү болууда, ошондой эле комплекстик таасир берүүчү, көпчүлүк учурда фунгициддик жана энтомоциддик эффект көрсөтүүчү биопестициддерге өзгөчө көңүл бурулуусу зарыл. Ошондой эле патент менен корголгон көп штаммдар биопрепараттарды өндүрүүгө эффективдүү актиномицеттердин арасынан көп сунушталган. Бирок, массалык өндүрүүнүн технологиясы Кыргызстан шарттарында азырынча начар өнүккөндүктөн, бул ишти аткарууда көп суроолорду чечүүгө туура келет.

Мындай жогорку активдүүлүктөгү микроорганизм-антагонистерди жана энтомопатогендерди колдонуу маанилүү ролду ойноп келүүдө.

Актиномицеттердин арасынан антибиотик затын бөлүп чыгарган *Streptomyces* уруусу өтө маанилүү. *Streptomyces* уруусундагы актиномицеттердин бактерияларга жана козу карындарга каршы көрсөткөн антагонисттик касиети өтө жогору. Ошондой эле биостимулятордук касиетке да ээ, ошондуктан алар айыл чарба тармагында дагы өсүмдүктөрдү фитопатогендерден коргоодо, түшүмдү сактап калууда бирден бир маанилүү агенттери болуп саналат.

Изилдөөнүн максаты: Кыргызстан шартында кеңири таралган жана коркунучтуу болгон алмуруттун бактерия күйүк илдет козгогучун бөлүп алуу, биологиясын изилдөө жана козгогучтарга каршы интеграциялык оптималдуу күрөшүү чараларын иштеп чыгуу.

Ушул максатты ишке ашыруу үчүн төмөнкү милдеттерди алдыга коюлуп чечилди.

1. Алмуруттун бактериялык күйүүсүн чакырган илдет козгогучун бөлүп алуу жана диагностикалоо
2. *Erwinia amylovora* бактериясынын нормалдуу өсүшүн камсыздоочу чөйрөлөрдү тандоо.
3. Лабораториялык шартта *Erwinia amylovora* илдет козгогучун жасалма жугузуу менен мөмөгө киргизүү менен алардын патогендик рассага кире тургандыгын аныктоо.
4. Бул илдеттерге каршы антагонист –микроорганизмдерди табуу жана аларды лаборатория жана талаа шарттарында сыноодон өткөрүү
5. *Erwinia amylovora* оору козгогучун ДНКсын изилдөө
6. Интеграциялык ыкманы колдонуу боюнча сунуштарды киргизүү.

1-БӨЛҮК

АДАБИЯТ-МААЛЫМАТТЫК ТАЛДОО

1.1. Кыргызстанда өстүрүлгөн мөмө-жемиш өсүмдүктөрүндө кенири таралган бактерия күйүк илдетинин тарыхы жана географиялык таралуусу жөнүндө маалыматтар

Бактериалдык күйүк *Erwinia amylovora* (Burrill 1882) Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Roders and Smith 1920. Синонимы: *Micrococcus amylovorus* Burrill 1882, *Bacterium amylovorus* (Burrill) Chester 1897, *Bacillus amylovorus* (Burrill) Trevisan 1889 [1,]. менен чакырылган илдет козгогучу– fire blight – Rosaceae тукумундагы 100 дөн ашык өсүмдүктү жабыркатат. Алардын ичинен эн кенири ооруга чалдыкканы: алмурут, алма, шабдаалы, абрикос, кара орук, айва, малина, роза, хурма, грек жангагы ж.б.

Илдеттин эң биринчи байкалышы 1780-жылдары Түндүк Американын Чыгыш жагы Нью-Йорк шаарында пайда болгон [2]. Илдеттин пайда болушу менен изилдөөлөрдүн бир нече этаптары башталган. Себеби, бак-дарактарга жогорку деңгээлдеги жабыркоону алып келген бул илдеттин эмне жана кайсы илдет экендигин аныктай албай келишкен. Талыкпаган изилдөөлөр жана аракеттердин натыйжасында, бул илдетти эң алгачкылардан болуп Америкалык окумуштусу Томас Берилл илдет козгогучту бөлүп алган. Бул илдет [3] жагымдуу шартта тактап айтканда, жогорку нымдуулук жана 26-30°C температурада абдан жогорку деңгээлдеги тездик менен көбөйөт. Анын көбөйүү ылдамдыгына мисал катары төмөндөгүнү айтсак болот: илдет алгач Американын Нью-Йорк шаарында гана болсо, андан кийинки жарым жүз жылдыкта Американын баардык жеринде таралган. Америкадан Жакынкы Чыгышка жана Жер ортолук деңизге тараган. Так жана натыйжалуу чаралар көрүлбөгөндүктөн, бул илет азыркы убакта [4] Америка, Канада, Жаңы Зеландия, Мексика, Гватемале, Чили, Улуу Британия, Египет, Нидерландия, Польша, Франция, Германия, Кипр, Израил, Туркия, Ирландия, Греция жана Азия өлкөлөрүнүн (жадыбал 1.1.1.) бак-дарактары

жабыркаган. Азыркы убакта бул илдеттин очоктору Болгария, Югославия, Гаити, Зимбабедде табылган.

Жадыбал 1.1.1.

Бактериалдык күйүк илдетинин дүйнөлүк таралышы

Изилденген жылдар	Мамлекет	Адабият
1780	США	[2]
1840	Канада	[3]
1924	Италия	[1]
1957	Англия	[3]
1962	Египет	[3]
1966	Польша	[2]
1972	Франция	[1]
2000	Болгария	[2]
2000	Украина	[2]
2003	Россия	[1]
2007	Латвия	[1]
	Белоруссия	[1]
2011	Туркия	[2]
2012	Казакстан	[3]
2013	Сауд Аравия	[2]

Кыргызстанда (Чүй областты) бактериалдык күйүк болжол менен 2008-2009жж таралган. Карантиндик илдет катары 2011-жылы киргизилген.

2013-жылкы маалыматтар боюнча Чүй областынын бактериалдык күйүк менен жабыркоосу 102га жеткен. 2011-жылы Ыссык-көл областына таралып, 2012-жылы баардык райондорун каптап кеткени изилденген. Чүй областында - 1235 га изилдөө жүргүзүлүп анын 102 га, Ыссык-Көл областында-42,1 га бактериалдык күйүк менен жабыркаган. 2013-жылдан бери Ыссык-Көл областынын Чыгыш райондорунда Ыссык-Көл району – Чоң-Сары-Ой, Бостери; Түп району – Ой-Тал, Кутургу, Түп; Аксу району – Тегизчил – Тепке – Бөрү-Баш – Теплоключенка; Жети-Өгүз району – Жети-Өгүз – Светлая Поляна – Ак-Кочкор; Каракол шаарында – Пристань Пржевальск 1226 га текшерилип, анын 29,9 га илдет менен жабыркаган. 2014-жылы [5] Чүй областында 2449 га жерге байкоо жүргүзүлүп, анын 177га аянтчасы бактериалдык күйүк менен жабыркан (жадыбал 1.1.2.). Илдет менен көбүнчөсү алма, алмурут жана жаш көчөттөрү жабыркаган.

Жадыбал 1.1.2.

Чүй областы боюнча бактериалдык күйүк илдетинин жабыркоо деңгээли

Райондор	Изилденген аймак, га	Жабыр тарткан аянт, га
Панфилов	321 га	9.0 га
Жайыл	203 га	46.0 га
Кемин	155 га	34.0 га
Чүй	195 га	47 га
Ыссык-Ата	278 га	4.0 га
Москва	939 га	19.0 га
Сокулук	172 га	10.0 га
Аламүдүн	186 га	8.0 га

1.2. Бактерия күйүк илдетин козгогон патогендин биологиялык өзгөчөлүгү, илдеттин симптомдору, пайда болуу мөөнөттөрү жана таралышы

Бактериалдык күйүк өсүмдүктүн өзүндө, топуракта, өсүмдүк калдыктарында өөрчүп, чирүү, соолуу, саргаюу ж.б илдеттерди чакырат. *Erwinia* уруусу илдет чакыруусу боюнча экиге бөлүнөт: жумшак чирикти чакыруучулар жана өсүмдүктүн соолуп өлүүсүн чакыргандар. *Erwinia amylovora* нын [6] перитрих таякчалары (1,1-1,6x0,6-0,9) мкм өлчөмүндө; грамм терс, спора жана капсула пайда кылбайт [3].

Илимий классификациясы:

Падышачылык: Бактерия

Тип: Протеобактерия

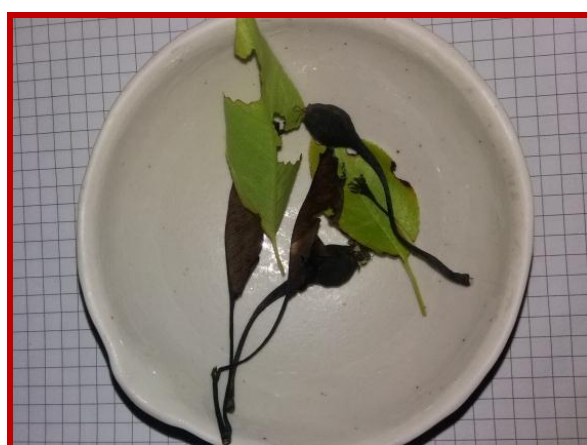
Класс: Gamma Proteobacteria

Катар: Enterobacteriales

Ууру: Enterobacteriaceae

Тукум: *Erwinia*

Түр: *Erwinia amylovora*



Сүрөт 1.1.1. Ботаникалык бакчадан чогултулган үлгүлөр

Жумшак чирикти чакыруучу бактерияларга:

- 1) *Erwinia carotovora subsp. Atroseptica* картошканын сабак жана мөмө чирик илдетин чакырат.
- 2) *Erwinia carotovora subsp. carotovora* бир нече өсүмдүктөрдүн чирик илдетин чакырат.
- 3) *Erwinia chrysanthemi* гетерогендик түр. Жумшак чирүүнү, соолууну чакырат.

Соолуу жана өлүмдү чакырган түрлөр:

- 1) *Erwinia tracheiphila* бадырандын бактериялык соолуусун чакырат.

Erwinia amylovora роза гүлдүүлөрдүн соолуусун чакырат. *Erwinia amylovora* өтө зыяндуу патоген. Ал өсүмдүктүн жер үстүндөгү бөлүгүн толугу менен жабыркатат. Илдет козгогучтун бул түрү 180 ден ашык өсүмдүк түрүн жабыркатып, өлүмүн чакырат. Илдеттин байкалышы эрте жазда гүлдөө мезгилинде байкалат. Өсүмдүктүн гүлү катып, күрөң түскө айланат, бара-бара карарып калат, бирок карарып (сүрөт 1.1.1) жабыркаган орган үзүлүп түшпөй бакта сакталып калат. Өткөргүч органдары илгич түрүндө жабылып, азык-зат өтпөй өсүмдүк куурай баштайт. Кышында оору козгогуч илдетке чалдыккан өсүмдүктө сакталат. Күндүн жылышы менен бактерия активдүү абалга келип, көбөйө баштайт. Бактериянын көбөйүүсү үчүн жогорку нымдуулук жана +18°C дан жогору температура жагымдуу шартты түзөт. Өсүмдүктү жабыркатуу үчүн жетишээрлик бактерияга ээ болгондо экссудат [7] пайда кылат. Экссудат жаңы ачылган бүчүр, гүл, жалбырак жана бир жылдык сабактарды биринчилик жабыркатууга учуратат. Илдет козгогуч өсүмдүктүн энелик клеткасында өсүп-өнүгөт. Бактериянын жашоо туруктуулугу экссудат тамчы түрүндө жарыкта, күндүн нурунда 22 саатка чейин, ал эми караңгы жерде 2 айга чейин сакталат. Илдеттин өнүгүүсү үчүн оптималдуу температура +25-30°C, минималдуу +3°C, ал эми +43-50°C да өлүмгө учурайт.

1.2.1. Илдеттин таралышы

Мөмө-дарактардын бактериялдык күйүк илдетин чакырган *Erwinia amylovora* жабыркаган бак-дарактан экинчи бир соо бак-даракка жалбырак, бүчүр, сабак жана гүлүндө пайда болгон жарааттар, жарылуу же табыгый тешиктер үттөр, отургузулуучу материал аркылуу, илдетке чалдыккан бактарды кесүүчү инструменттер, өсүмдүк менен чандашкан курт-кумурска (аары, чымын), соруучу зыянкеч-биттер [8] менен таралат. Ошондой эле илдет козгогуч канаттуулар, жаан-чачын, аккан суулар аркылуу таралат. Илдетин булагы катары илдетке чалдыккан мөмө жана идиштер эсептелинет. Илдеттин булагы катары тамчы түрүндөгү эксудат саналат (сүрөт 1.2.). Ал тумандуу жана нымдуу аба-ырайында илдетке чалдыккан ткандан агыш, тамчы түрүндө пайда болот. Эксудат 100 км чейин жаан, шамал, канаттуу жана курт-кумурска менен тарайт. Эксудаттын кичинекей бөлүгү, илдетке чалдыккан мөмө дарактарынын гүлдөрүнө түшөт. Жагымдуу шартта бактерия өтө тез көбөйөт. Алар үчүн жагымдуу чөйрө 70% нымдуулук жана абанын температурасы 18⁰С. Андан ары гүлгө түшкөн илдет козгогуч гул багы аркылуу түйүлдүккө жана сабакка жугат.



Сүрөт 1.1.2. *Erwinia amylovora* нын мөмөдөгү эксудат бөлүп чыгаруусу

Сабактар жаандан жана бакча иштеринен алган жараат аркылуу да илдетке чалдыгат. Илдет козгогуч: некротикалык жараттарда жана сабактын ички ткандарында кыштап, сакталат. Жаз келгенде некротикалык жараттарда илдет козгогуч жогорку нымдуулуктун жардамы менен активдүү болот.

1.2.2. Мөмө дарактарынын күйүк илдети менен жабыркоо белгилери

Бактерия күйүк илдети менен өсүмдүктүн жер үстүндөгү бөлүгү жабыркайт: гүлү, жалбырагы, өркүн, сабак, мөмө. Илдеттин жүрүшү гүлдөөдөн башталат. Андан өркүн жана сабагына тарайт. Бучүр ачылбайт, карарып, кургап калат. Бирок вегетация мезгили бүтмөйүнчө үзүлүп түшпөй, даракта калат. Гүлдөр жазында күтүүсүздөн карарып, соолуп калат. Жаш сабагы жана жалбырагы карарып, буралат. Илдет дарактын жогору жагынан төмөн карай тез арада тарайт. Дарактын сырткы көрүнүшү аны өрттөп салган сыяктуу көрүнөт. Кабыгы жумшарып, ак түстөгү тамчы сымал эксудаттын бөлүнүшү байкалат. Кабыгынын жарылган жерлери мрамор сымал сүрөттү элестеткен кызыл-күрөң түстөгү белгилүү такты пайда кылат. Илдетке чалдыккан эпидермистин сырткы көрүнүшү да күчтүү өзгөрүлөт. Ооруган жана соо кабыктын ортосундагы так даана билинет. Кислотага туруксуз келет. *Erwinia amylovora* кыймылдуу, перитрихиялык таякчалар. Өлчөмү 0,7-0,1*0,9-1,5 мкм[9]. Грамм терс, спора жана капсула пайда кылбайт. Агарда тегерек, майда, жээги жылмакай тегиз, майланышкан, агыш, жылтыраган колонияларды берет. Кинг Б жана Леван чөйрөсүндө жакшы өсүп чыгат. Таякчалар жалгыздан, экиден же анча чоң эмес чынжырчадан [10] турат. Грамм боюнча терс жана кислотага туруктуу эмес аэроб же факультативдик анаэроб.

1.3. *Streptomyces* уруусундагы бактериялардын жалпы мүнөздөмөсү

Актиномицеттердин арасынан антибиотик затын бөлүп чыгарган *Streptomyces* уруусу өтө маанилүү. *Streptomyces* – актиномицеттердин эң чоң уруусу. Негизги жашоо чөйрөсү – топурак жана деңиз суулары. Стрептомицеттер көпчүлүк антибиотиктердин продуценттери катары белгилүү.

Кыргызстандын шартында *Streptomyces* метаболиттери өсүмдүктөрдү зыянкечтерден, оорулардан коргоо үчүн колдонуу биринчилерден болуп, КТМУнун тажрыйба талаасында колдонулган. Көп жылдык изилдөөлөрдүн натыйжасында *Streptomyces* уруусуна кирген актиномицеттерден антибиотиктер

жана башка биологиялык активдүү заттар бөлүнүп алынган. Булар өзүнө антифунгициддик, өсүүсүн [11] стимулдаштыруучу жана илдет козгогучка туруктуулукту берүүчү заттар болуп эсептелет.

Streptomyces уруусундагы актиномицеттердин бактерияларга жана козу карындарга каршы көрсөткөн антагонисттик касиети өтө жогору. Өсүмдүктүн өсүүсүн, түшүм берүүсүн, өнүмдүүлүгүнүн жана топурактагы пайдалуу организмдер менен тыгыз байланыштырып, чоң пайда алып келет.

Антибиотиктер жана аларды түзгөн микроб – антагонистер өсүмдүктөрдүн илдеттери менен күрөшүүдөгү баалуу каражаттар болуп саналат. Ошондой эле биостимулятордук касиетке да ээ, ошондуктан алар айыл чарба тармагында дагы өсүмдүктөрдү фитопатогендерден коргоодо, түшүмдү сактап калууда бирден бир маанилүү агенттери болуп саналат. *Streptomyces* уруусу [12] аэробдук, грамм оң, жип сымал бактериялар. Алар жакшы өнүккөн бутактары бар вегетативдик гифтерди пайда кылат. Гифтердин диаметри—0,5-2.0 мкм. Актиномицеттер өзүнүн жашоосунда бактерия болуп саналат. Актиномицеттер антагонисттик касиетин көргөзүп, ар кандай микроорганизмдерге өз таасирин көргөзөт. Фитопогендик бактериялардын өсүүсүнө таасирин тийгизет. Бул топко кирген баардык өкүлү экзофермент хитиназды бөлүп чыгарып [13] козу карын мицелийинин структуралык компоненттерин бузуп анын гифтеринде өсүүгө жөндөмдүү.

Илимий классификациясы:

Падышачылык: Бактерия

Класс:Актиномицеттер

Тип: Actinobacteria

Катар:Actinomycetales

Уруу: Streptomyces

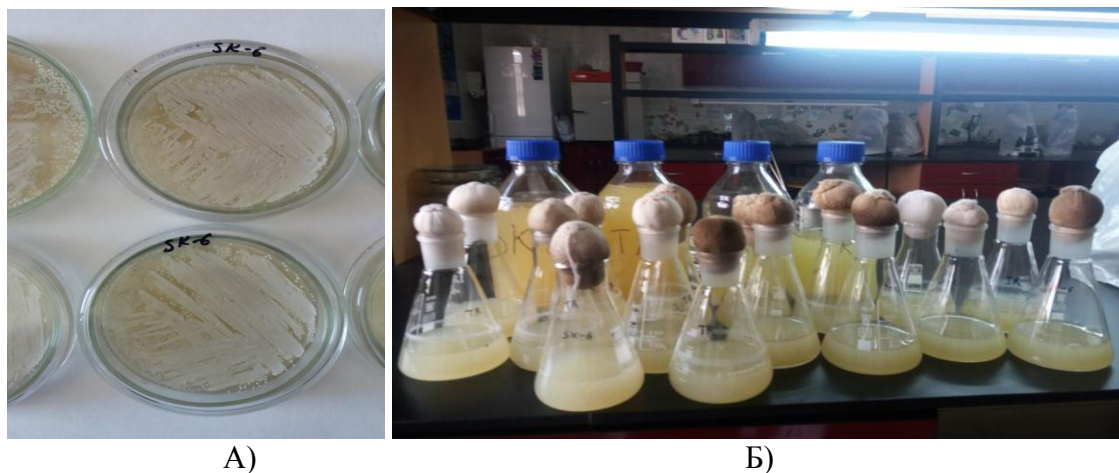
Түркүм: Streptomycetaceae

Көп түрдүүлүгү: 547

Streptomyces негизинен топуракта жана өсүмдүк калдыктарында табылат, көпчүлүк түрү эндоспораларды пайда кылууга жөндөмдүү. *Streptomyces* уруусундагы актиномицеттер (сүрөт 1.2.1.) мүнөздүү топурак жыты менен белгилүү. *Streptomyces* татаал экинчилик метаболизми бар экендиги менен

мүнөздөлөт. Алар клиникалык колдонууда турган көп сандагы антибиотиктерди бөлүп чыгарат. Мисалы, азыркы кезде сейрек колдонулган стрептомицин – дал ушул *Streptomyces* негизин түзгөн антибиотик заты болуп саналат. *Streptomyces* кээде адамдын да патогени болушу мүмкүн. Мисалы, адамдын сейрек кездешүүчү мицетома инфекциясы *Streptomyces somaliensis* менен чакырылат [14].

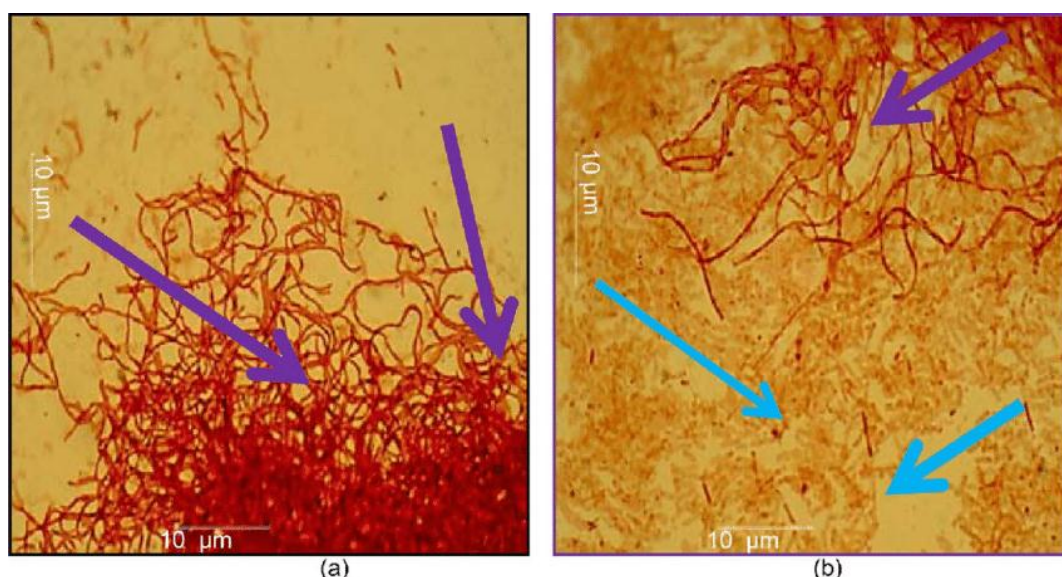
Геному. *Streptomyces* уруусундагы актиномицеттердин геному сызыктуу жана шакек сымал кош чынжырлуу ДНК молекуласын кармайт. 2002-жылы *Streptomyces coelicolor* A3(2) штаммынын толук геному жарыяланган. Анын хромосомасында 8667507 нуклеиддик жуп, Г+Ц кармалышы 72,1% жана белокту коддогон 7829 ген кармалат. 2003-жылы *Streptomyces avermitilis* штаммынын толук геному ачылган. Анын геному сызыктуу кош чынжырлуу ДНК молекуласын түзөт. ДНК молекуласы 9025608 неуклеотиддик жупту, белокту коддогон 7581 генди кармайт, Г+Ц кармалышы 70,7% түзөт. *Streptomyces scabies* штаммынын сызыктуу структурадагы хромосомасында 10148695 нуклеотиддик жуп жана Г+Ц кармалышы 71,45% түзөт. *Streptomyces griseus* актиномицетинин [15] IFO 13350 штаммынын геномунда 8545929 нуклеотиддик жуп кармалат. Ал эми Г+Ц кармалышы 72,2%, алар 7138 белокту коддойт.



Сүрөт 1.2.1. А) *Streptomyces* SK-6 жана TR-5-9 штамдарынын колониясы
Б) *Streptomyces* SK-6 жана TR-5-9 штамдарынын суюк суспензиясы

Streptomyces уруусунун геномунун өзгөчөлүгү башка бактериалдык геномдордон айырмаланып, жогоруда айтылган сызыктуу структурага ээ болгон хромосомду кармайт. Бул уруунун геномунун дагы бир өзгөчөлүгү - сызыктуу

структурадагы жана узун полиндромдук плазмиддин кармалышы. Мисалы, *Streptomyces coelicolor* A3(2) штаммынын эки плазмиди бар- SCP1 жана SCP2. Ал плазмиддердин негизин 356023 жана 31317 нуклеотиддик жупту кармаган сызыктуу структурадагы кош чынжырлуу ДНК [16] молекуласы жана белокту коддогон 449 жана 40 ген түзөт.



Сүрөт 1.2.2. А) *Streptomyces bambargiensis* SK-6 (1мл) штаммынын + *Erwinia amylovora* (5мл) илдет козгогучун басып алышы (микроскоп астынан көрүнүшү)

1.3.1. Антибиотиктердин биотехнологияда колдонулуусу

Streptomyces уруусу антибиотиктерди синтездөөчү эң чоң уруу болуп саналат жана ал 1940-1950-жылдардан [17] баштап антибиотиктерди өндүрүү чарбасында кеңири колдонулуп келген. Акыркы жылдары *Streptomyces* уруусунун өкүлдөрү гендик инженерияда клондоо үчүн жана бөтөн ДНКнын экспрессиясы үчүн активдүү колдонулуп баштады. Адатта, ичеги таякчасы эукариоттук гендерди экспрессиялоо үчүн колдонулуп келет.

Ичеги таякчасында секреция механизмдери болгону менен, алар төмөнкү эффективдүүлүккө ээ жана натыйжада секреция периплазматикалык мейкиндикке чыгарылат. Ал эми грам оң бактериялар, мисалы, *Streptomyces* секрециясын түздөн-түз клетка сыртындагы чөйрөгө чыгарат. Андан башка *Streptomyces spp.* да секреция механизмдери *Escherichia coli* бактериясына салыштырмалуу

эффективдүү келет. Секреция системасынын касиеттери гетерологиялык экспрессияланган белоктордун өнөр жайлык өндүрүшүндө артыкчылыкка ээ. Себеби, бул кийинки тазалоо стадиясын жөнөкөйлөштүрөт жана пайданын болушун жогорулатат. *Streptomyces spp.* Актиномицетинин [18] ушундай касиеттери бактериялардын- *Escherichia coli* жана *Bacillus subtilis* альтернативи катары колдонууга артыкчылык берет.

1.3.2. *Streptomyces* уруусундагы бактериялар бөлүп чыгарган антибиотик заттары, алардын мүнөздөмөлөрү

Актиномицеттер антибиотиктердин продуценттери катары биотехнологияда кеңири колдонулат. Алар козу карын, бактерия жана шишик клеткаларына каршы жогорку активдүүлүктөгү антибиотиктер.

Антибактериалдык антибиотиктер:

Пурамицин (продуценти *Streptomyces albo-niger*)

Эритромицин (продуценти *Streptomyces erythreus*)

Неомицин (продуценти *Streptomyces fradiae*)

Стрептомицин (продуценти *Streptomyces griseus*)

Тетрациклин (продуценти *Streptomyces rimosus*)

Ванкомицин (продуценти *Streptomyces orientalis*)

Рифампицин (продуценти *Streptomyces mediterranei*)

Хлорамфеникол же левомецетин (продуценти *Streptomyces venezuelae*)

Линкомицин (продуценти *Streptomyces lincolnensis*)

Козу карындарга каршы антибиотиктер:

Нистатин (продуценти *Streptomyces noursei*)

Амфотерицин В (продуценти *Streptomyces nodosus*)

Наталицин (продуценти *Streptomyces natalensis*)

Медицинада колдонулуучу, шишиктерге каршы антибиотиктер:

Даунорубицин (продуценти *Streptomyces peucetius* жана *coeruleorubidus*)

Доксорубицин (продуценти *Streptomyces peucetius* жана *coeruleorubidus*)

Блеомицин (продуценти *Streptomyces verticillus*)

Пуромицин – пуриндик катардагы антибиотик, *Streptomyces albo-niger* менен продуценттелет. In vitro пуромицин – грам оң жана кээ бир грам терс бактериялардын өрчүүсүн басандатат. Ошондой эле жөнөкөйлөргө (трипаносомдор, амёбалар) жана клеткалык культураларга активдүү таасир берет. Пуромицинди чычкандардын шишик илдетине колдонууда ийгиликтүү жыйынтык берген. Ал эми адамдардын шишик илдетине колдонууда эч кандай жыйынтык болгон эмес [19].

Нистатин (Nystatinum) - *Streptomyces noursei* актиномицентинин негизинде продуценттелет. Спецификалык жытка ээ, ачык-сары түстөгү, ачуу даамдагы порошок заты. Сууда эрибейт, ал эми спиртке аз эрийт. Жарыктын катышуусу менен жогорку температурада ажырайт. Кычкыл жана щелочтук чөйрөдө жеңил бузулат. Молекулалык массасы- 926,13г/моль.

Амфотерицин В (Amphotericin B) – козу карындарга каршы колдонулуучу препарат. Брутто-формуласы: $C_{47}H_{733}NO_{17}$. Продуценти - *Streptomyces nodosus*, *Candida spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus spp.* жана башка козу карындарга активдүү таасир берет. Бактерия жана вирустарга таасири жок.

Натамицин (Natamycin) – ак же крем түстөгү порошок. Брутто-формуласы: $C_{33}H_{47}NO_{13}$. Молекулалык массасы – 665,72г/моль. Продуценти - *Streptomyces natalensis*. Сууда эрибейт, диметилформамидде жана уксус кислотасында жакшы эрийт. Ал эми метил спиртинде начар эрийт [20]. Жарыкка болгон сезгичүүлүгү жогору. Көпчүлүк ачыткыч козу карындарга (өзгөчө *Candida albicans*), дерматомицеттерге (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*), ачыткычтарга (*Torulopsis* жана *Rhodotorula*) жана башка козу карындарга (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cephalosporium*), ошондой эле кээ бир жөнөкөйлөргө (трихомонад) активдүү таасир берет.

Эритромицин (Erythromycin) – ак түстөгү, жытсыз, ачуу даамдуу, кристалл формасындагы порошок. Брутто-формуласы: $C_{37}H_{67}NO_{13}$. Спиртке жакшы эрийт, ал эми сууда аз эрийт. Грам оң бактериялардын (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*) жана грам терс бактериялардын (*Neisseria gonorrhoeae*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis*), кээ бир микроорганизмдердин (*Mycoplasma pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*) өсүү жана өрчүүсүн басандатат.

Неомицин (Neomycin)– аминогликозиддер группасына кирген антибиотик. Брутто-формуласы: $C_{23}H_{46}N_6O_{13}$. Молекулалык массасы – 614,644г/моль. *Streptomyces fradiae* актиномицети менен продуценттелет. Бул антибиотикти көз жана тери ооруларына кеңири колдонушат.

Стрептомицин (Streptomycin) – биринчи муундагы аминогликозиддик антибиотик. Брутто-формуласы: $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$. Молекулалык массасы – 1457,39г/моль *Streptomyces griseus* – нур өткөрүүчү актиномицети менен бөлүп чыгарылат. Стрептомицин – ак же агыш түстүү, ачуу даамдагы порошок же көңдөйлүү масса. Этил спирт, хлороформ жана эфирде дээрлик эрибейт, ал эми сууда жеңил эрийт. Кычкыл чөйрөгө туруктуу келет [21]. Стрептомицин, өзгөчө щелочтук чөйрөдө, грам терс жана кээ бир грам оң микроорганизмдерге активдүү келет. Ал эми *Streptococcus* уруусундагы бактерияларга болгон активдүүлүгү начар. Анаэроб жана вирустарга таасир бербейт.

Тетрациклин (Tetracycline)–ачуу даамдагы, жытсыз, сары түстөгү кристалл формасындагы порошок заты. Брутто-формуласы: $C_{22}H_{24}N_2O_8$. Молекулалык массасы – 444,435г/моль. Сууда жана спиртке өтө начар эрийт. Ал эми кислота жана щелоч эритмесинде жеңил ажырайт. Жарыктын таасири астында каралжын түскө өтөт. Тетрациклинге *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus spp.*, *Serratia spp.*, *Bacteroides spp.* бактериясынын көпчүлүк штамдары жана вирустар туруктуу келет.

Ванкомицин (Vancomycin)– гликопептиддер группасына кирген үч циклдик антибиотик. Брутто-формуласы: $C_{66}H_{74}Cl_2N_9O_{24}$. Молекулалык массасы – 1485,71г/моль. *Streptomyces orientalis* актиномицетинен бөлүнүп алынат. Сууда жакшы эрийт, метанолдо орточо, ал эми спиртке, ацетондо жана эфирде начар эрийт. Аэробдук жана анаэробдук грам оң микроорганизмдерге активдүү таасир берет. Ал эми грам терс микроорганизмдерге, микобактерияларга, козу карындарга, вирустарга жана жөнөкөйлөргө активсиз келет.

Рифампицин (Rifampicin)– кызыл же кызгылт түстөгү, жытсыз, кристалл түрүндөгү порошок заты. Брутто-формуласы: $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$. Сууда дээрлик эрибейт, фармамидде жана этил спиртинде аз эрийт. Ал эми этил ацетатта, метил

спиртинде жана хлороформдо жеңил ажырайт. Аба нымдуулугуна, жарыкка жана кычкылтектин таасирине сезгич келет. *Хлорамфеникол (Chloramphenicol)* – ак же кошумча саргыч-жашыл түстүү, ачуу даамдуу кристалл порошок. Брутто-формуласы: $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$. Молекулалык массасы – 323,13г/моль. *Streptomyces venezuelae* актиномицетинен алынган синтетикалык антибиотик. Сууда жана хлороформдо дээрлик эрибейт, этанолдо жана этилацетатта жеңил эрийт.

Линкомицин (Lincomycin) – ак же агыш түстөгү, ачуу даамдуу, кристаллдык порошок. Брутто-формуласы: $C_{18}H_{34}N_2O_6S$. Сууда жеңил эрийт, ал эми спиртте начар эрийт. Грам оң микроорганизмдерге, кээ бир спора пайда кылуучу анаэробдук бактерияларга жана грам терс анаэробдорго эффективдүү таасир берет.

Даунорубицин (Daunorubicin) – *Streptomyces coeruleorubidus* менен продуценттелген антрициклиндик антибиотик. Брутто-формуласы: $C_{27}H_{29}NO_{10}$. Молекулалык массасы – 563,99г/моль. Кызыл түстөгү гигроскопдук порошок же көңдөйлүү масса. Сууда жана этанолдо жеңил эрийт.

Доксорубицин (Doxorubicin) – *Streptomyces peucetius* культурасынан бөлүнүп алынган антрициклиндик антибиотик заты. Брутто-формуласы: $C_{27}H_{29}NO_{11}$. Молекулалык массасы – 579,99г/моль. Кызыл түстөгү кристаллдык порошок же көңдөйлүү масса. Сууда жакшы эрийт, ал эми спиртте дээрлик эрибейт. рН көрсөткүчү үчтөн төмөн жана жетиден жогору болгон эритмеде туруксуз таасир көрсөтөт.

Блеомицин (Bleomycin) – *Streptomyces verticillus* штаммынан бөлүнүп алынган гликопептиддик антибиотиктердин аралашмасы. Брутто-формуласы: $C_{50}H_{73}N_{17}O_{21}S_2$.

1.3.3. Өсүмдүк коргоо тармагында колдонулган антибиотиктердин түрлөрү жана өзгөчөлүктөрү

Өсүмдүк илдеттери көпчүлүк учурларда патогендик козу карындар менен чакырылат. Себеби, өсүмдүк илдеттеринин ичинен 90% микоздор болуп эсептелет.

Азыркы күнгө чейин өсүмдүк илдеттери менен күрөшүүдө профилактикалык методдор жана адам, жаныбарларга токсиндүү келген фунгициддер колдонулуп келген. Өсүмдүктү коргоодо антибиотиктерди колдонууну фунгициддик активдүүлүккө ээ болгон кошулманы табуудан кийин гана башталды. Алгач, стрептомицин, актидион жана гризеофульвин антибиотиктери фитопатологдордун көңүлүн бурду.

1950-жылы Р.Браун жана Э.Д.Хейзен топурак актиномицеттерин изилдөө менен күчтүү антагонизм – 4824Q штаммын [22] бөлүп алышкан. Бул штаммдын топурак козу карындарына көрсөткөн активдүүлүгү жогору болгон. Андан кийинки изилдөөлөрдүн натыйжасында – культуралдык суюктуктан күчтүү антибиотиктик касиетке ээ болгон, сары түстөгү аморфтук зат бөлүнүп алынган. Бул штамм актиномицеттердин жаңы түрү деп таанылып, *Streptomyces noursei* илимий аталышы берилген. Ал эми культуралдык суюктуктан алынган антибиотик – нистатин деп аталган [8].

Антибиотиктер – (грек тилинен алынган, anti-каршы, bios-жашоо) микроорганизмдер тарабынан бөлүнүп чыгарылган, токсиндик касиети бар органикалык заттар.

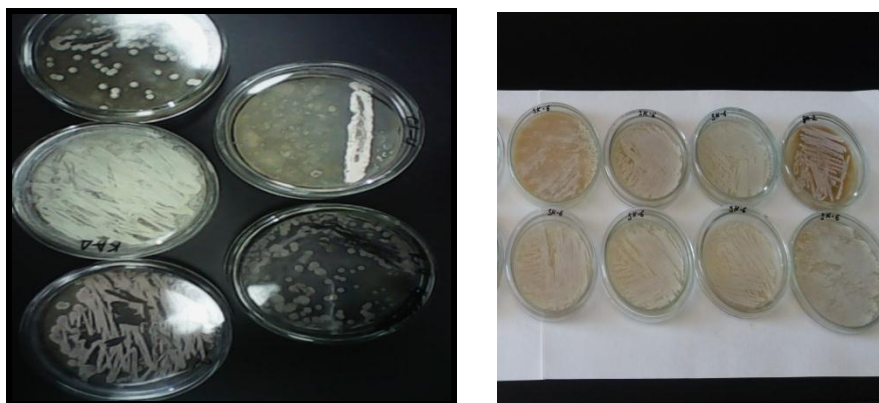
Антибиотиктер бири-биринен химиялык составы, таасир берүү спектри жана келип чыгышы боюнча айырмаланышат. Жүздөгөн антибиотиктер изилденген жана аныкталган. Алардын ичинен 40-60% актиномицеттерден алынган антибиотиктер, ал эми калганы козу карындардан, бактериялардан жана башка микроорганизмдерден алынат. Актиномицеттерден продуценттелген

антибиотиктердин ичинен – стрептомицин, фитобактериомицин, кандицидин, вирусин, актидион, гризеин, тетраамицин, нистатин, эритромицин кеңири колдонулат. Ал эми козу карындардан – виридин, глиотоксин, гризеофульвин, пенициллин, трихотецин, патулин алынса, бактериялардан – грамицидин, субтилиин, фунгистатин жана башка антибиотиктери алынат. Антибиотиктердин химиялык жаратылышы ар түрдүү: алардын ичинде полипептиддер, липоиддер, хинондор, кетондор жана башка кошулмалар бар. Антибиотиктерди кеңири жана тар спектрда таасир берүүсү боюнча айырмалашат [23]. Кеңири спектрдеги антибиотиктер – ар түрдүү группадагы жана түрдөгү микроорганизмдерге токсиндүү келет. Ал эми тар спектрдеги антибиотиктер – белгилүү гана группадагы жана түрдөгү микроорганизмдерге таасир берет.

Антибиотиктердин таасир берүү механизми ар түрдүү жана азыркы күнгө чейин толук изилденген эмес [24]. Антибиотиктер – зыянкеч курт-кумурскалардын өсүү циклин токтотот, РНКнын синтезин басаңдатат, өсүмдүк кожоюндун зат алмашуу процессин жагымсыз абалга алып келет жана клеткалык кабыкты лизиске учуратат.

Антибиотиктерди медицинада, ветеринарияда, тамак-аш өнөр-жайларында кеңири колдонушат. Ошондой эле айыл жана токой чарбасында фитопатогендик микроорганизмдер менен күрөшүүдө да колдонушат. Антибиотиктер өсүмдүккө сабак, жалбырак, тамыр жана үрөндүн чел кабыгы аркылуу кирет да, узак убакытка чейин өзүнүн биологиялык активдүүлүгүн сактоого жөндөмдүү. Ошондой эле антибиотиктер өтө аз концентрацияда эффективдүү таасир берет.

Кыргыз-Түрк “Манас” Университетинин, Айыл Чарба Факультетинин Фитопатология лабораториясында Кыргызстандын Соң-Көл аймагынан бөлүнүп алынган актиномицеттердин коллекциясы сакталган (сүрөт 1.3.3.).



Сүрөт 1.3.3. Кыргыз-Түрк “Манас” Университетинин, Айыл Чарба Факультетинин, Фитопатология лабораториясында сакталган *Streptomyces* уруусуна кирген актиномицеттердин штаммдардын коллекциясы

2 - БӨЛҮК

МАТЕРИАЛДАР ЖАНА МЕТОДИКАЛАР

2.1. Изилдөө мекемеси жана үлгүлөрдү даярдоо

Методика боюнча изилденип жаткан жалпы аянттын 20% тен көбү, талаа аянтынын 25-50% ти, бак-дарак бакчасынын 50-100% тине байкоо жүргүзүү керек болду. Биринчи кезекте көчөттөр, ташылып келинүүчү материалдар, менчик мекемелер, ботаникалык бакча жана изилдөө мекемелери, ошондой эле алма, алмурут, данектүү, декоративдүү жана роза гүлдүүлөр тукумуна кирген өсүмдүктөр текшерилди. Изилдөө Айыл-чарба факультетинин, Өсүмдүктөрдү коргоо бөлүмүнүн, фитопатология жана биотехнология лабораториясында жүргүзүлдү. Оору козгогучту изилдөөдө аба-ырайынын таасири чоң роль ойнойт. Республикада температура жайкысын +40-42°C га чейин көтөрүлсө, кышында -30°C га чейин төмөндөйт. Кээде аба-ырайынын кескин өзгөрүшү байкалат. Мындай көрсөткүч оору козгогучтун ар кандай температурага туруктуулугун аныктайт.

Үлгүлөрдү изилдөөгө даярдоо. *Erwinia amylovora* оору козгогучунун таза культуранын бөлүп алууда *Pseudomonas syringae* жана *Pseudomonas cerasi*, *Erwinia amylovora* менен оору козгогуч белгилери, сырткы көрүнүшү окшош болгондуктан, дароо бактериалдык күйүк деп айтууга болбойт [25]. Ал үчүн атайын идентификациялоо ыкмалары колдонулду.

2.2. *Erwinia amylovora* культуранын бөлүп алуу ыкмалары

- Эң кеңири таралган *E. amylovora* илдет козгогучуна жагымдуу болгон азык-чөйрөлөр (Кинг Б, Леван, ЭПА) колдонулду. Алынып келген үлгүлөр дистирленген суу менен жуулуп, сырткы микрофлорадан

арылтылды. Даяр болгон үлгүлөр Петри чөйчөкчөсүнө азык-чөйрөгө отургузулуп, 7 күн термостатта өстүрүлөт.

- Уайт (Waite M. B.) окумуштуунун сунушу менен термостатта өстүрүлгөн колонияларга идентификациялоо жүргүзүлдү.
- Пастер жана Р. Кох (1843-1910) окумуштууларынын изилдөө методу боюнча андан ары таза культура бөлүнүп алынды.
- Бөлүнүп алынган таза культурага Ганс Кристиан Грамдын Рью ыкмасы колдонулду.

Февраль айынын 3-декадасында аба температурасы 10°C дан жогорулаган убакта, Айыл-чарба тажрыйба талаасынан жана Э.З. Гареев атындагы Ботаникалык бакчадан мөмө дарактарында мурунку жылдан мумификацияланып, илдетке чалдыккан алмуруттун (Лесная красавица, Майская, Факел, Старкимсон, Семереченская красавица, Красивая, Диканка) сортторунун жалбырагы, сабагы алынып келинди. Үлгүлөр чөйчөкчөгө салынып, спирт менен чайкалды, кайра дистирленген суу менен жуулуп, 20 мин буфер куюлуп коюлду, мацерат даярдалды. Даяр болгон мацерат ЭПА, Кинг В, жана Леван чөйрөлөрүнө отургузду жана 27°C температурада термостатка салынды. 24 сааттан кийин колонияларга байкоо жүргүзүлүп, жаны чөйрөлөргө таза культура отургузулду.

2.2.1. *Erwinia amylovora* бактериясынын нормалдуу өсүшүн камсыздоочу чөйрөлөрдү даярдоо ыкмалары

Бактериялык күйүктү чакырган козгогучту бөлүп алууда жана лабораториялык шартта сактоодо колдонулган атайын азык чөйрөлөрүнүн курамы:

Жадыбал 2.2.1.

Леван чөйрөсүнүн курамы

1	Дрождуу экстракт	2г
2	Бактопептон	5г
3	NaCl	5г
4	Сахароза	50г
5	Агар	20г

Леван чөйрөсү бул- гомополимер левансахарозанын жардамы менен синтезделген фруктозанын калдыгы [9], башкача айтканда ЭПС коргоо функциясын аткарып, бактериянын өсүмдүк тканына киришин жөндөйт. Чөйрөнүн курамы л/г менен:

Жадыбал 2.2.2.

Кинг В чөйрөсүнүн курамы

1	Пептон	20 г
2	Глицерин	10 мл
3	КНРО ₄	1,5г
4	MgSO ₄ x 7H ₂ O	1,5г
5	Агар	15-20г
6	Дис.суу	1л

Кинга Б чөйрөсүнүн рН көрсөткүчү 7,0 -7,2. болушу керек. Кинга Б чөйрөсүн автоклавта 120⁰С температурада 15 мүнөт стерилденет.

ЭПА (эт пептон агары)

1	ЭПА	35г
2	Дистиллирленген суу	1л

ЭПА – катуу, жасалма чөйрө. 96-100°C температурада эрийт жана бөлмө температурасында катууланат. Бул чөйрө органикалык азотко жана аминокислоталарга бай болуп эсептелет. *Erwinia amylovora* ЭПА чөйрөсүндө тегерек, кичине, чети тегиз, агыш-сары, жалтырак, үстү майланышкан сыяктуу колонияларды пайда кылды. Ошондой эле, илдет козгогуч, ЭПА чөйрөсүндө кочкул-сары түстөгү пигмент пайда кылды [26].

2.3. Антагонист микроорганизмдерди өстүрүү үчүн колдонулган чөйрөлөр

КАА (крахмал-аммиак агары)

1	Сахароза	20г
2	NaNO ₃	2г
3	KH ₂ PO ₄	1г
4	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5г
5	KCl	0,5г
6	FeSO ₄	0,01г
7	Агар	20г

КАА – актиномицеттерди өстүрүүдө колдонулган катуу жана синтетикалык чөйрө.

Сулуу акшагынын агары

1	Дистирленген суу	1л
2	Сулуу	15г
3	Агар	20г

Бардык компоненттерди сууга салынып, толук көлөм 1000 мл жеткирилет. Компоненттер сууда толук эрүүсү үчүн чөйрө 65-70°C температурада тынымсыз 5-6 мин аралаштырылат. Андан кийин колбаларга куюлуп 120-121°C температурада, 1,5 атмосфералык басымында автоклавда 20 мин стерилденет.

2.4. Морфологиялык жана культуралдык ыкмалар

Бактериалдык күйүктү культуралдык ыкма менен аныктоо морфологиялык мүнөздөмөгө негизделген (Leeuwen и ван Kestere, 1998).

Морфологиялык өзгөчөлүктөргө: споранын өлчөмү, гифтин диаметри. Культуралдык функцияга колониянын өсүшү, колониянын түсү (Пенроуз Е.Т. ж.б. 1976; Mordue 1979; Lane 2002). Жабыркаган мөмөнү нымдуу камерада өстүрүп, өсүп чыккан бактерия азык чөйрөгө отургузулат.

Жабыркаган ткандан түз бөлүү: Үлгүлөр тазаланат жана 1% натрий гипохлорити менен 3 төн 10 мүнөткө чейин дезинфекцияланат, андан кийин стерилдүү сууда 3 жолу жуулат. Кичинекей бөлүктөр (2-3 мм) стерилдүү скальпель менен кесилип чөйрөлөргө салынат.

Инкубациялоо: 22 °C 5 күнгө чейин термостатта өстүрүлдү.

Морфологиялык идентификация Lane (2002) ачкычы колдонулуп, төмөнкү критерийлер боюнча жүргүзүлдү:

1. Колониянын түсү: боз (А), сары (В) же крем өңдүү/ак;
2. Өсүү темпи: 10 күндөн кийин С) 22-80 мм – тез (D), 70-80 мм – орто (Е), же < 70 мм – жай (F);
3. Споранын пайда кылуусу: микроскоптон караганда көп (G) же аз (H);

4. Концентрациялык шакекче: колониянын үстү чачыраган (I) же жок (J);
5. Колониянын четтери: пластинанын асты кырдуу (K) же кырдуу эмес (L);
6. Колониянын тордолушу: колониянын үстү тордолгон мицелий желекчедей ар түрдүү катмарды пайда кылат, роза гүл сымал ачылган (M) же жок (N);
7. Кара шакекче: колониянын асты колониянын четтеринде кара же күрөң шакекченин болушу (P) же болбошу (Q)

2.5. *Erwinia amylovora* бактериясынын молекулярдык - биохимиялык касиеттерин изилдөө ыкмалары

2.5.1. ПЧР методу менен *E. amylovora* илдет козгогучун идентификациялоо

ПЧР - полимераз чынжыр реакциясы. Бул илдет козгогучту баштапкы стадиясында аныктап бере турган жогорку технологиялык ыкма. ПЧР- анализди так жана даана аныктайт. ПЧР методун **Кэри Муллис** окумуштуусу тапкан, бул эмгеги үчүн 1993-жылы Нобель сыйлыгына татыган. Ферменттердин аралашмасы менен илдет козгогучтун ДНК жана РНКсын негиздерин көбөйтөт [27]. ПЧР реакциясы *Biometra TGradient* амплификаторунда (термоциклер) муздатуучу жана ысытуучу биоматериалдык пробиркалар менен жүргүзүлөт. Жогорулатуучу жана төмөндөтүүчү температуралар анализдин так аныкталышында негизги роль аткарышат. Мында 3 этап: денатурация, элонгация жана электрофорез де анализдөө ишке ашырылат.

ДНК- дезоксирибонуклеин кислотасы- нуклеотиддерден турган полимер же нуклеин кислотасынын бири. ДНК тирүү организмдердин түзүлүшү, өөрчүшү кош спиралдан жана жеке касиеттери жөнүндөгү генетикалык информацияны сактап, укумдан тукумга берилет. ДНКнын молукеласы полинуклеотид тизмегинен турат жана ал көп сандаган нуклеотиддерден түзүлөт. Составына азот негиздери: аденин, гуанин, цитозин жана тимин, канттуу бөлүк жана фосфор кислотасы кирет.

Бактериалдык күйүк илдет козгогучун *DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Germany)* китин колдонуп, стандарттык методика менен ДНКнын геному изилденип келүүдө. Лабораторияда бактериалдык күйүк илдет козгогучунун таза культуранын бөлүп алып, ПЧР [28] анализи жүргүзүлдү.



Сүрөт 2.5.1. Амплификатор жабдыгынын көрүнүшү.

2.5.2. Кыймылдуулугун аныктоо

Бактериялардын кыймылдуулугун аныктоо үчүн эң оңой ыкмалардын бири болуп «илинген тамчы» ыкмасы эсептелет. Атайын предметтик айнекчеге стерилденген суу тамчылатылат. Бир суткалык бактериядан илгичтин жардамы менен айнекчедеги сууга аралаштырылат. Даярдалган суспензияга фуксин боегу кошулат. Үстүнөн жылчыксыз абалда жабуучу айнек менен жабылат.

2.5.3. *E. amylovora* бактериясынын лабораториялык шартта гиперсезгичтүүлүгүн аныктоо реакциясы

J. Cabrefigанын (2005) [28] методу менен *E. amylovora* бактериясы чакырган илдет козгогучту аныктоого болот. Атайын тандалып алынган алмуруттун сортторунан 5тен даана жалбырак алынып келинди. *E. amylovora* бактериясынын 10^7 КОЕ/мл концентрация суспензиясы даярдалды. Ар бир жалбырака 4төн лабораториялык ийне менен жасалма жугушуу иштери жүргүзүлдү. Жугушулган жалбырактар бөлмө температурасына коюлуп, 7 күнгө чейин некроз пайда кылуусуна көзөмөл жүргүзүлүп, шкала боюнча : 0 – некроз пайда болгон жок; 0,1-0,2 – 5% жалбырактын бетинде некроз; 0,3-0,5 – 25% жалбырактын бетинде некроз; 0,6-0,8 – 75% жалбырактын бетинде некроз; 0,9-1,0 – 90% жалбырактын бетинде некроз пайда кылып, % менен баа берилди.

2.5.4. Лабораториялык шартта *E. amylovora* бактериясы алмуруттун ар кандай сортторуна патогендүүлүк тести

Уайт ыкмасы сезгичтүүлүк реакциясы менен катар эле патогендүүлүк тести жүргүзүлдү. Бул ыкма бактериалдык күйүктү аныктоодо эң негизги тест болуп эсептелинет. Ал жаш, жумшак алмурутка жүргүзүлөт. Илдет козгогучтун жаш мөмөлөргө канчалык деңгээлде зыянга учуратканын аныктоо үчүн алмуруттун ар кандай сортторунан 5тен даана алып келдик. Айыл-чарба факультетинин лабораториясында бөлүнүп алынган 1суткалык *E. amylovora* культуранын концентрациясы 3×10^7 КОЕ/мл суспензиясы даярдалды. Даяр болгон суспензия алмуруттун ар кандай сортторуна, диаметри 3-6см болгон мөмөсүнө энтомологиялык ийненин жардамы менен киргизилди. Контроль катары ар бир сортко дистирленген суу киргизилип, үлгүлөр 28°C нымдуу камерага жайгаштырылды. 2 күндөн 7 күнгө чейин жугушулган үлгүлөргө байкоо жүргүзүлдү. Некротикалык тактын пайда болушун W-S Kim & K. Geider (2000)

[13] окумуштууларынын илимий изилдөө ыкмасы менен 4түк балл шкаласы боюнча бааладык. Эгер 2 суткадан кийин ийне сайган жерде некротикалык так пайда болуп, агыш эксудат бөлүнүп чыкса, анда бөлүнүп алган бактерия чынында *Erwinia amylovora* экендиги айкындалат. Мында 0 балл – симптомдун белгилери байкалаган жок же некроз жана экссудат пайда кылган жок; 1 балл – мөмөлөрдүн соолуусу, билинээр билинбес тактын пайда болушу; 2 балл - күрөң тактардын пайда болушу жана тактардын даана байкалышы; 3 балл – так жана билинээр билинбес экссудат; 4 балл – так жана экссудаттын даана байкалышы.

2.5.5. Ар түрдүү температурада өсүүсүн аныктоо

Өсүү интенсивдүүлүгү 4-60°C температура аралыгында аныкталат. Бул үчүн Петри чөйчөкчөсүндөгү агар чөйрөсүнө отургузуу жүргүзүлөт жана керектүү температурага коюлат. Өсүүнүн оптималдуу температурасын убакыттын өтүшү менен пайда болгон бириндеген колониялар аркылуу визуалдык түрдө аныкталат. *Erwinia amylovora* культураны микроскоптон изилдөө үчүн препарат даярдалып Грам методикасы менен боёлду.

2.5.6. Физиологиялык жана биохимиялык касиетин аныктоодо колдонулган ачкычтар

Жадыбал 2.5.1.

Илдетти аныктоодо дүйнөлүк стандарттагы ачкычтар.

Ачкычтар	Ачкычтагы жыйынтык
Грам боюнча	-
Кыймылдуулугу	+
Анаэроб	+
Аэроб	+
Былжыр өсүү	+
Арабиноза	+
Глюкоза	+
Манноза	-
Целлюбиоза	-

2.6. *Streptomyces* уруусуна кирген актиномицеттин штамдарынан лабораториялык шартта суспензия даярдоо ыкмалары

Топурактан актиномицеттерди бөлүп алуу: 10 гр топуракты майдалап, колбадагы 100 мг дистирленген сууга кошуп, шейкерде 30 - 40 мүнөт чайкайбыз. Топурак сууда жакшы эригенден кийин, 9 мл суу куюлган пробиркаларга 1мл ден дозатордун жардамы менен алып, 4 пробиркага 4 жолу суюлтуу жасайбыз. 3-суюлтуудан 0,3-0,5 мл чашка Петриге куюп үстүнө 45-50⁰С температурада эритилген КАА чөйрөсүн киргизүү менен тереңдикке себиң, термостатка 27-28⁰С температурага салабыз. Өсүп чыккан актиномицеттерден таза штамдарды бөлүп алуу үчүн КАА чөйрөсүнө кайталап, отургузууларды жүргүзөбүз. Таза штамдар

бөлүнүп алынгандан кийин 0 -5⁰С температуралык муздаткычка сактап коюу керек.



Сүрөт 2.6.1. Актиномициттерди бөлүп алуу ыкмасы

2.7. *E. amylovora* бактериялык күйүк илдетине каршы тажрыйба талаасында биологиялык агенттерди эффективдүүлүгүн аныктоо ыкмалары

Биологиялык эффективдүүлүктү аныктоо үчүн Гареев атындагы Ботаникалык бакчадан жана Айыл чарба тажрыйба тааласынан алмуруттун илдет менен жабыркаган белгилери бар көчөттөрү тандалып алынды. Илдетке чалдыккан үлгүлөрдө бактериялык күйүктүн симптомдоруна дал келген белгилерин байкоого болот. Үлгүлөрдө сабактар карарып, жалбырактары куурап, соолуп, бирок дарактан үзүлүп түшкөн эмес. Илимий изилдөөдө даана так жыйынтык алуу үчүн, тандалып алынган көчөттөрдөн үлгүлөрдү чогултун, лабораторияда идентификация жүргүзүлдү. Жыйынтыгында 80% бактериялык күйүк экенин тастыкталып, биологиялык коргоо ишин андан ары изилдедик. Белгиленип алынган 5-8 жылдык көчөттөргө патогенге каршы антагонисттерди чачыратуу иштери жүргүзүлдү. Бул үчүн *Streptomyces* штамдарынын SK-6 жана TR-5-9 антагонисттери колдонулду.

2.7.1. Илдетке чалдыккан алмурут көчөттөрүн антагонистер менен чачыратуу

а) Илдетке чалдыккан көчөттөр *Streptomyces* SK-6 жана TR-5-9 антагонисттери (1×10^6 спора/ мл) менен чачыратылды.

б) Контроль – 0.01% Tween 80 кармаган суу менен чачыратылды.

Көчөттөр 9 күндөн 12 күнгө чейин байкоо жүргүзүлүп, өстүрүлөт. Мында Кыргызстанда өстүрүлгөн алмуруттун:

- Лесная красавица
- Майская
- Факел
- Старкимсон
- Семереченская красавица
- Красивая
- Диканка сорттору колдонулду.

2.7.2. Алма жана алмурут көчөттөрүнүн жалбырактарында антагонистердин кармалуу узактыгын аныктоо

Ар бир варианттагы көчөттөрдөн 5 тен жалбырактар үзүлүп 100мл дик колбада- 35мл 0.01% Tween 80 сууга салынат. Колбалар чайкалат жана патогендердин конидияларынан жана клеткаларынын саны ар бир суюлтулган суспензияда гемоцитометрде саналат. Жалбырактардын беттери өлчөнөт, диаграмма түзүлдү.

10 күн өткөндөн кийин антагонисттер кайталанып колдонулду:

а) көчөттөр *Streptomyces* SK-6 жана TR-5-9 антогонисттери (1×10^6 спора/ мл) менен чачыратылды.

Б) Контроль – 0.01% Tween 80 кармаган суу менен чачыратылды.

Белгилүү күндөрдө ар бир вариант көчөттөрдөн 5 тен жалбырактар үзүлүп 100мл дик колбада - 35мл 0.01% Tween 80 сууга салынып, колбалар чайкалып, патогендердин конидияларынын жана клеткаларынын саны ар бир суюлтулган суспензияда гемоцитометрде саналды. Жалбырактардын беттери өлчөнөт, диаграмма түзүлөт.

2-бөлүм жыйынтыктары:

1. Кыргызстанда өстүрүлгөн алмуруттун сортторунан илдет менен жабыркаган үлгүлөр чогултулуп алынды
2. Бактериалдык илдет козгогучун бөлүп алдык.
3. Уайт ыкмасын колдонуп, бактериалдык күйүккө идентификациялоо жүргүзүлдү.
4. Бактериалдык күйүк илдетин идентификациялоодо дүйнөлүк стандарттык ачкычтар колдонулду.
3. Бактериалдык күйүктүн таза культурасы микроскоп астынан изилденди жана ПЧР методу аткаруу үчүн жабдыктар даярдалды.
4. Кыргызстанда өскөн алмуруттун сортторуна биологиялык коргоо үчүн актиномициттердин суюк суспензиясы даярдалды.
5. Алмуруттун жаш мөмөлөрүнө бактериалдык күйүк менен жасалма жугуштуруу иштери колдонулуп, патогендик тест жүргүзүлдү. Натыйжада алмуруттун кайсы сорту туруктуу келээри аныкталды.
6. Механикалык ыкма колдонулду

3-БӨЛҮК

ЭКСПЕРИМЕНТАЛДЫК БӨЛҮК

ӨЗДҮК ИЗИЛДӨӨЛӨР ЖАНА ЖЫЙЫНТЫКТАР

3.1. Илдет козгогучту бөлүп алуу ыкмасы

E. amylovora илдет козгогучу кожоюн өсүмдүккө табигый жолдор аркылуу кирет: үттөр, аталык чаңчалар, жараттар жана механикалык жолдор. Мындан башка илдет ташуучулар болуп курт-кумурскалар эсептелет. Өзгөчө бактериянын эпифиттик популяциясы зыянга учуратат.

Илдет менен жабыркаган өсүмдүк соолуп, жаш сабактар кургай баштайт. Бактерия жогорку деңгээлде көбөйгөндө ткандар жарылып, жабышкан суюк экссудат пайда кылат. Экссудат алгач бозоргон агыш түстө болуп, бара-бара күрөң-кара түскө айланат.

Өткөргүч ткандардан азык зат өтпөй өсүмдүк куурап, белгилүү органдары өлүмгө учурайт же өсүмдүк толугу менен өлүп жок болот. Бактерия менен жабыркаган өсүмдүк мүнөздүү белгилерди пайда кылат. Кыргыз Республикасында 2004-жылы карантандык илдет катары катталган. 2-3жылдын ичинде Кыргызстандын Түндүк тарабын 40-50%ге чейин жоготууга учураткан.

Бул симптомдорго таянып, Гареев атындагы ботаникалык бакчадан жана Айыл чарба тажрыйба талаасынан үлгүлөрдү чогултуп алдык.



(а)



(б)

Сүрөт 3.1.1. Гареев атындагы Ботаникалык бакчадан (а) жана Айыл чарба тажрыйба талаасынан (б) алынган үлгүлөр

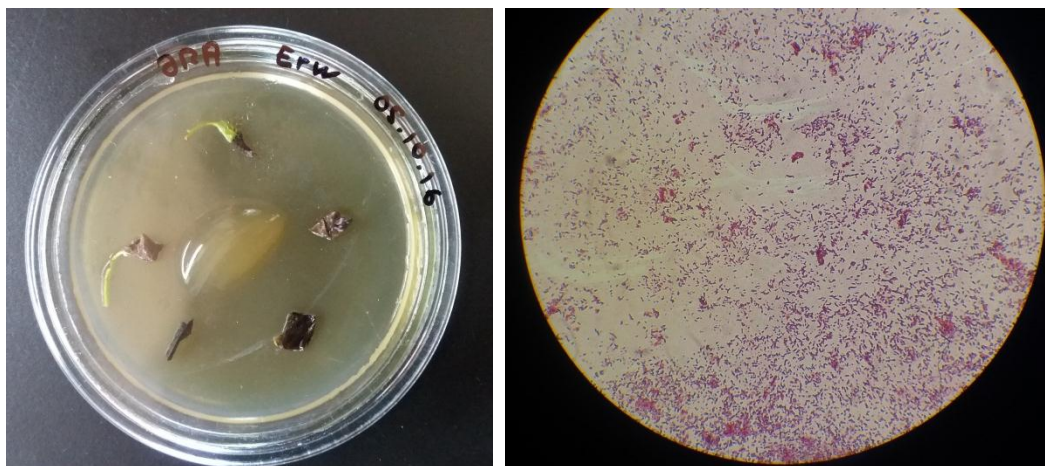
Үлгүлөрдү чогултуу учурунда бак-дарактын 60 – 70% ти бактериалдык күйүк менен жабыркаганын көрүүгө болот. Мында жабыркоо деңгээлине таянып, илдет курт-кумурскалар аркылуу жуккан деп жыйынтык чыгарсак болот. Анткени курт-кумурскалар азыктанып, пайда кылган жараат, тешиктерде бактериалдык күйүк илдети өнүккөн.

Үлгүлөрдү алмуруттун: Лесная красавица, Майская, Факел, Старкимсон, Семереченская красавица, Красивая жана Диканка сортторунан чогулттук. Ар бир дарактан жалбырагы, гүлү, жаш мөмөсү жана жаш сабагы алынды. Лабораториялык изилдөөгө алынып келинген үлгүлөр, 100 мл колбадагы дистирленген сууга салынды. 20-30 мин шейкерге чайкоого коюлду (сүрөт 3.1.2.), себеби чайкоо учурунда жалбырактагы микрофлора ажырап сууга чыгат.



Сүрөт 3.1.2. Жалбырактарды шейкерде чайкоого даярдоо

Жабыркаган ткандан изолят түз бөлүү жолу менен жүргүзүлдү. Даяр болгон суспензиядан 0.1мл 3 катар суюлтуу жасалды. Стерилдүү Петри чөйчөкчөсүнө 50°C температурада ЭПА, Кинг Б жана Леван азык чөйрөлөрү коюлду. Илгичтин жардамы менен 3-суюлтуудан азык-чөйрөлөрүнүн бетине жайгаштырылды. Андан соң илдетке катуу чалдыккан жерлеринден кесилип, азык чөйрөлөрүнө отургузулду. Даяр болгон Петри чөйчөктөрү 27°C температурадагы термостатка салынып, 2-3 күн сайын өсүүсү байкалып турду. Чөйрөгө өсүп чыккан колония өлчөнүп (сүрөт 3.1.3.), микроскоп астынан каралып, бактериалдык күйүк илдет козгогучтун критерийлерине жооп берди. Термостаттан чыгарылып бөлмө температурасында андан ары өсүүгө коюлду.



(А)

(Б)

Сүрөт 3.1.3. А) Илдетке чалдыккан ткандан отургузулган үлгүлөр
Б) Өсүп чыккан колониянын микроскоп астынан көрүнүшү

Жогорудагы сүрөттөн (А) бактериалдык күйүк илдетинин белгилерин байкоого болот: жалбырак жана гүлү толугу менен соолуп, карарып калган.

Erwinia amylovora ЭПА, Кинг Б жана Леван азык-чөйрөлөрүндө ар кандай колонияларды (сүрөт 3.1.4.) пайда кылды. Майланышкан, жылмакай, сары жана агыш ж.б. көрүүгө болот. Мисалы:

Лесная красавица – Леван чөйрөсүндө майда тегерек-тегерек, кичине, чети тегиз, агыш-боз, жалтырак, үстү майланышкан сыяктуу колонияларды, ЭПА чөйрөсүндө кочкул-сары түстөгү пигмент пайда кылды. Ошондой эле, илдет козгогуч Кинг Б чөйрөсүндө агыш-крем түстүү, тегерек, үстү бир аз дөмпөйгөн колонияларды пайда кылды.

Майская - Леван чөйрөсүндө кочкул-сары, сапсары түстөгү аябай майланышкан, чети бир аз бодуракай, жалтырак, чашка Петринин бетин толук каптап аябай өсүп чыкты, Кинг Б чөйрөсүндө саргыч майда тегерек колонияларды пайда кылды. Ал эми ЭПА чөйрөсүндө жакшы көрсөткүч берген жок.

Факел – бул алмуруттун сорту Кинг Б чөйрөдө саргыч, агыш, тегерек, жылмакай, майланышкан колонияларды пайда кылды.

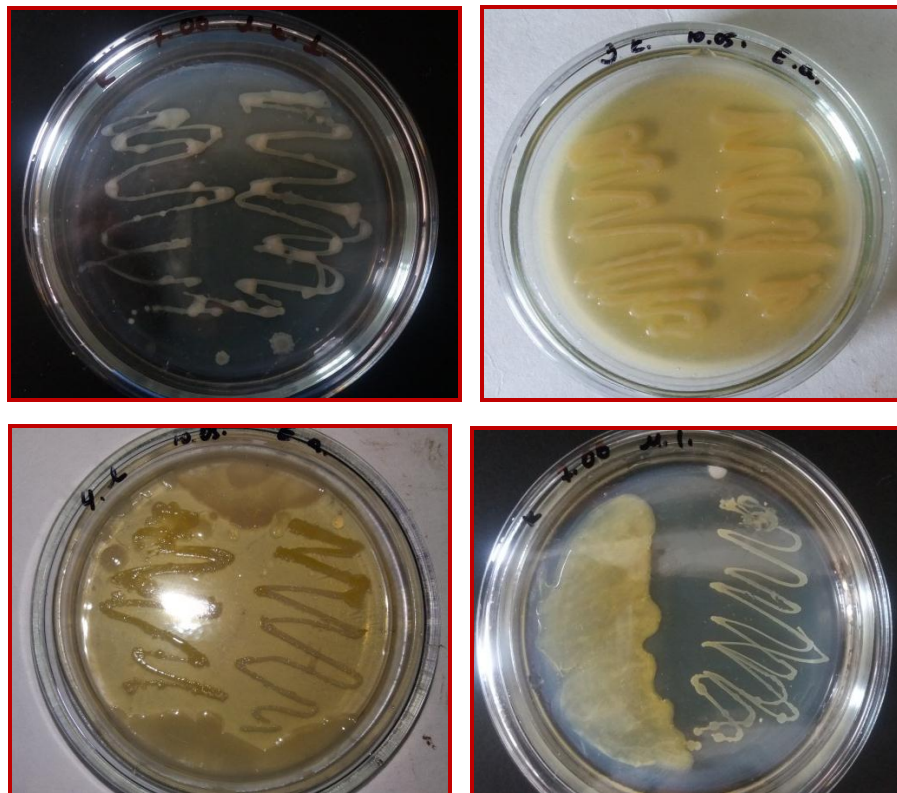
Семереченская красавица- Кинг Б жана ЭПА чөйрөсүндө өсүүсү жакшы болгон жок, ал эми Леван чөйрөсүндө 1 күндө эле сапсары, аябай майланышкан, чашканын бетин толук каптап бактериалдык күйүк өсүп чыкты.

Красивая сорту чон, чети ар кандай формадагы, аябай майланышкан, саргыч-боз жалтырак колония пайда кылды. Бактериалдык күйүк үчүн Красивая

сортунда Кинг Б чөйрөсү жагымдуу азык чөйрө экенин аныктадык, себеби ЭПА жана Леван чөйрөлөрүндө бактериалдык күйүк өсүп чыккан жок.

Диканка сорту да Кинг Б чөйрөсүндө чоң-чоң бодуракай, бир аз майланышкан, жалтырак, тегерек чети тегиз эмес бозоргон, үстү дөмпөйгөн коллонияны берди.

Старкимсон – Леван азык-чөйрөсүндө майланышкан майда-майда тегерек, сары, агыш сары, тегерек чети жылмакай, үстү бодуракай, дөмпөйгөн коллония пайда кылды.



Сүрөт 3.1.4. *Erwinia amylovora* бактериясынын ЭПА, Кинг Б жана Леван азык-чөйрөлөрүндө өсүп чыккан коллониялары

Ошондой эле алмуруттун сортторуна жараша азык чөйрөнү тандоо башкача айтканда чөйрөлөрдө өсүү ылдамдыгын аныктадык. Мында отургузулган үлгүлөр 1 күндөн кийин эле өсө баштады. Ар бир 24 саат сайын байкоо жүргүзүлүп, коллониялар саналып, өсүү ылдамдыгы эсептелип, дептерге түшүрүлдү. Бул көрсөткүч таблица түрүндө берилди (жадыбал 3.1.1.).

Илдет кзгогучтун азык чөйрөдө өсүп чыгуу деңгээли

Алмуруттун сорттору	ЭПА		Кинг Б		Леван	
	1 күн	5 күн	1 күн	5 күн	1 күн	5 күн
Красивая	-	+	++	+++++	+	++
Деканка	-	+	++	+++++	+	++
Факел	+	++	+	+++	++	+++++
Лесная красавица	-	+	+	++++	++	+++++
Майская	+	++	+	++++	++	+++++
Семереченская красавица	-	+	+	++	++	+++++
Старкимсон	-	++	+	++++	++	+++++

Таблицада алмуруттун ар кандай сортунун өсүү ылдамдыгы көрсөтүлдү.

– белгиси колония өсүп чыккан жок; + аз санда гана колония көрүндү; ++ өсүү деңгээлин байкаса болот; +++ орто сандагы жыштыкта колония пайда болду; ++++ колониялар жыш өсүп даана көрүгө болот; +++++ мында чашка Петринин бетин толук жаап аябай жыш санда колония өсүп чыкты. Бул таблица менен бактериалдык күйүк үчүн ЭПА чөйрөсүн колдонсок, 20% гана натыйжа ала алабыз, Кинг Б азык- чөйрөсү 50-60% дык натыйжа берет, ал эми Леван чөйрөсү менен 80-90% ишти так аткарууга жана илдет козгогучтун таза культурасын бөлүп алууга болот деген жыйынтык чыгара алабыз. Ал эми Леван чөйрөсүнө отургузулган үлгүлөр 1 күндөн кийин өсүп чыкканына байланыштуу ишти дагы тездетип, ошондой эле ар кандай сортту колдонсок болот.

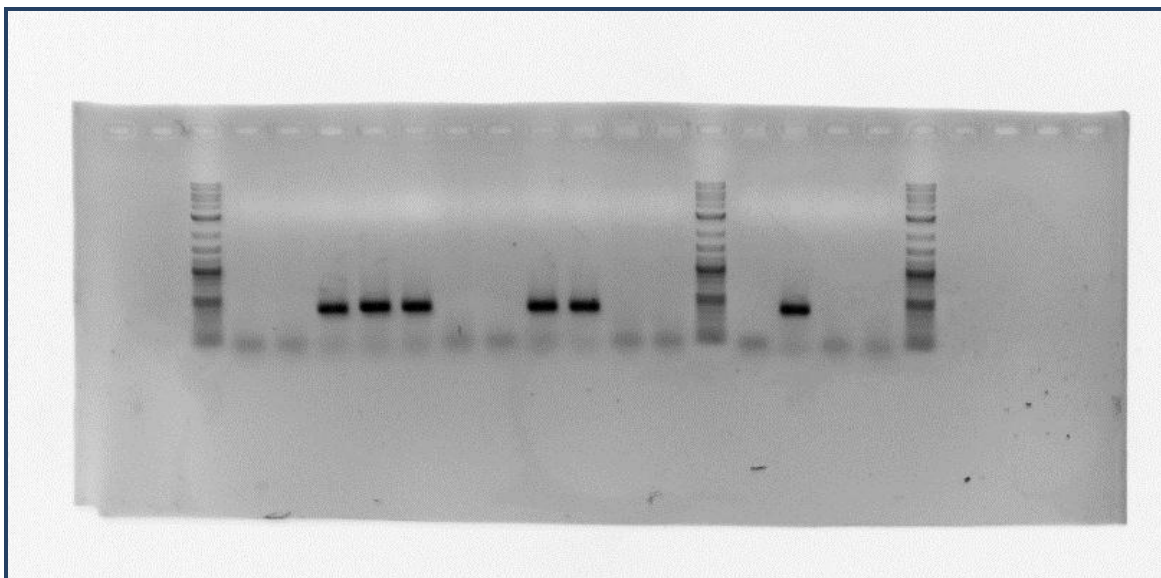
3.2. ПЧР методу менен *E. amylovora* илдет козгогучун идентификациялоо

Лабораторияда Кинг Б, Леван жана ЭПА чөйрөлөрүнө өсүп чыккан бактериалдык күйүк илдетинен таза культура бөлүп алдык. 24 сааттык таза культураны *DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Germany)* китин колдонуп, ПЦР анализи жүргүзүлдү. Иштин жүрүшүндө 3 этап аткарылды:

- Биринчилик денатурация 94°C температурада 3 мин кармалат
- 30сек. 50°C кармоо
- 3мин. 72°C кармоо
- Элонгация 5мин. 72°C кармоо менен 35 жолу кайталануу ишке ашырылат.

Жыйынтыгында 1.0%түү горизонталдуу агар гелинде этидиум бромид менен боелуп электрофорезден өткөрүлүп, ультра фиолет нурунда каралды (3.2.1-сүрөт).

ПЧР методунун артыкчылыгы-белгилер байкала электе патогендин бар же жок экенин аныктоого болот.



Сүрөт 3.2.1. *E. amylovora* диагностикалоодогу үч реакциядан кийин алынган 16 S rRNA генинин электрофорездик профилдери



3.3. *E. amylovora* бактериясынын лабораториялык шартта гиперсезгичтүүлүгүн аныктоо

J. Cabrefigанын (2005) [78] методун колдонуп, *E. amylovora* бактериясын чакырган илдет козгогучтун гиперсезгичтүүлүгүн изилдедик. Май айынын 3-декадасында алмуруттун жалбырактары толук ачылганда тест жүргүзүлдү. Атайын тандалып алынган алмуруттун: Лесная красавица, Майская, Факел, Старкимсон, Семереченская красавица, Красивая жана Диканка сортторунан 5тен даана жалбырак алынып келинди. Мында таза, илдет менен жабыркабаган жана курт-кумурскалар аркылуу жарат алынбаган жалбырактарды тандап алдык. Себеби, изилденип жаткан иш так жана даана чыгышы үчүн ушулар эске алынды. Үлгүлөргө белгилерди коюп, ар бир сортту өз-өзүнчө бөлүп алдык. *E. amylovora* бактериясынын 10^7 КОЕ/мл концентрация суспензиясы даярдалды. Ар бир жалбырака 4 төн жасалма жугуштуруу жүргүзүлдү. Жугуштурулган жалбырактар бөлмө температурасына коюлду. Контрол катары ар бир сортко бирден жалбырака дистирленген суу киргизилди.



Сүрөт 3.3.1. Айыл чарба тааласынан тандалып алынган алмуруттун сорттору (сол жакта) жана жалбырактарды жасалма жугуштуруу учуру (оң жакта)

Жугуштурулган күндөн баштап ар бир жалбырака көзөмөл жүргүзүлүп, пайда болгон тактар өлчөндү. 7 күнгө чейин некроз пайда кылуусуна көзөмөл жүргүзүлүп, шкала боюнча аныкталды. Колдонулган алмуруттун сорттору бактериалдык күйүккө сезгич келээри далилденди. Анткени 1 күндөн кийин эле некротикалык тактар пайда боло баштады.



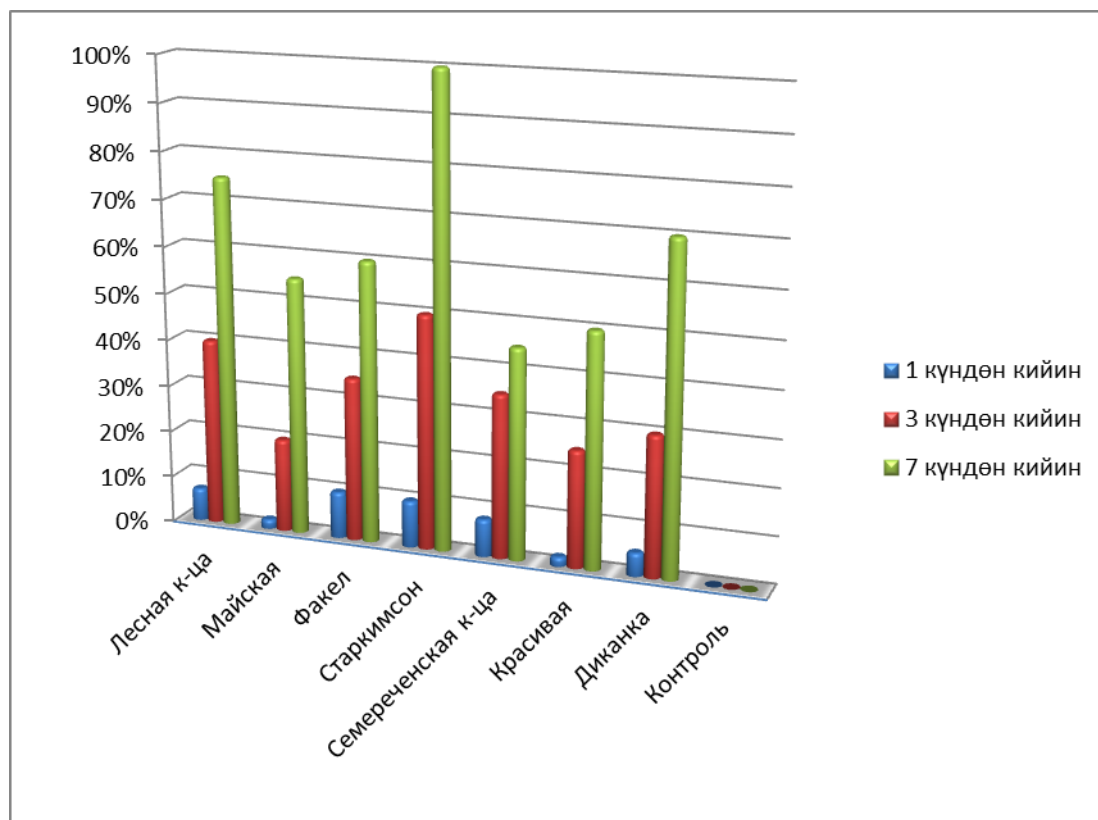


Сүрөт 3.3.2.. Жасалма жол менен илдет козгогуч киргизилген алмуруттун сортторунун жалбырагынын жана сабагынын 7 күндөн кийинки абалы

Бул көрүнүш 7 күнгө чейин изилденип, өсүү деңгээлине жараша диаграмма түзүлдү. Мында 0 – некроз пайда болгон жок же– 10-30% жалбырактын бетинде некроз; 30-50% жалбырактын бетинде некроз; 50-70% жалбырактын бетинде некроз; 70-100% жалбырактын бетинде некроз пайда кылып, % менен баа берилди.

Диаграмма 3.3.1.

Жалбырактын бактериалдык күйүк менен жабыркоосу



Ал эми диаграмма көрсөткөндөй (диаграмма 3.3.1.) жалбырактардын жугушуудан кийин алардын жабыр тартуу деңгээли аныкталды, канча пайызы жабыркаганын төмөнкү диаграммада көрүндү. Бактериалдык күйүк илдети менен жугузгандан 1 күн өткөндөн кийин жалбырактары соолуп, жумшарып, жалбырактын учтарынан баштап күрөң, бара-бара күйүп калгандай кара түскө өтө баштады. Жалбыракта жабыркоонун пайызы 10% -ке чейин жетсе, ал эми контролдо 0% түздү. Алмуруттун Майская жана Красивая сорттору 1 күндөн кийин 2% гана жабыр тартса, Диканка - 5%, Лесная красавица-7%, Семереченская красавица — 8% жабыр тарткан, Факел жана Старкимсон сорттору 10% жабыркап эң көп зыянга учурады. Ал эми 3 күндөн кийин жабыркоо пайызы Майская 20%, Красивая 25%, Диканка – 30%, Семереченская красавица- 35%, Лесная красавица – 40% болсо Старкимсон-50% ге чейин жетти. 7 күндөн кийин алмурутта жалбырактардын жабыркоосу: Семереченская красавица — 45%, Красивая - 50%, Майская – 55%, Факел -60%, Диканка – 70%, Лесная красавица – 75% болсо, Старкимсон толугу менен 100%дык жабыркоого учурап, жалбырак толугу менен капкара болуп калды. Контролдо жалбырактардын жабыркоосу 0% боюнча өзгөрүлгөн жок.

Жадыбал 3.3.1.

Алмуруттун ар кандай сортторунун илдет козгогуч менен жабыркоосу

Алмуруттун сорттору	1 күндөн кийин	3 күндөн кийин	7 күндөн кийин
Лесная красавица	7%	40%	75%
Майская	2%	20%	55%
Факел	10%	35%	60%
Старкимсон	10%	50%	100%
Семереченская красавица	8%	35%	45%
Красивая	2%	25%	50%

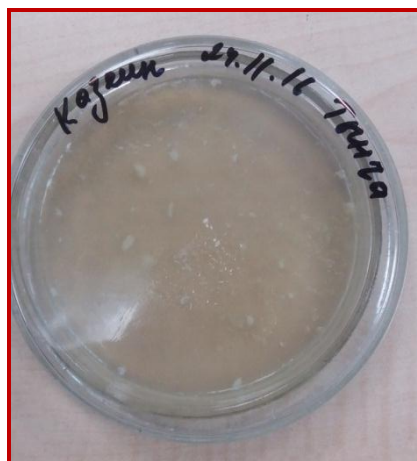
Диканка	5%	30%	70%
Контроль	0%	0%	0%

Жогоруда таблица бул жабыркоонун жыйынтыгы түрүндө көрсөтүлдү. J.Cabrefigанын (2005) [78] методу боюнча жүргүзүлгөн тесттин жыйынтыгы менен Лесная красавица жана Старкимсон сорттору *E. amylovora* бактериясы чакырган бактериалдык күйүк илдетине сезгич келээрин аныктадык. Жалбырактар илдет козгогуч менен жугушулганы далилденди.

Биотипти аныктоо изилдөөлөрү

Изилденип жаткан *Erwinia amylovora* бактериясынын биохимиясын изилдөө стандарттык ачыктарга таянуу менен жүргүзүлдү. Бул үчүн казеин, глюкоза, целлибиоза, арабиноза, манноза жана маннит канттары алынды.

Казеинди ажыратуусун аныктоо 3% түү майсыз сүттүн жана стерилдүү 3% түү суу агардык бөлүгүнөн турган чөйрөгө бактериалдык күйүк бактериясы отургузулуп (штрих), термостатта 3 сутка өстүрүлдү. Ачык түстөгү зона канчалык чон болсо казеиндик активдүүлүк жогору болот. Натыйжада ачык түстөгү зона пайда кылган жок, казеинолитикалык (протеаза ферменти) активдүү эмес деген жыйынтыка келдик.

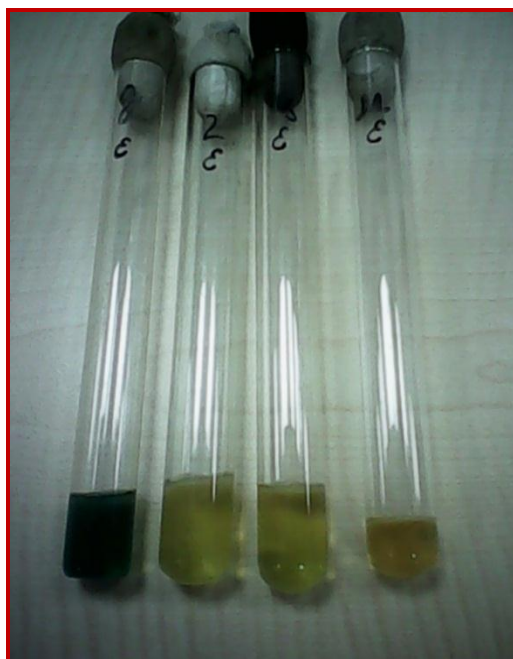


Сүрөт 3.3.3. Казеинди ажыратуусу

Канттардын синирүүсүн аныктоо

Канттарды даярдоо ыкмасы:

- Индекатор даярдоо (Андредэ):
- Дис.суу -100 л
- Фуксин кычкылы – 0,5 г
- 4% суу аралашмасы – 16 мл
- Суу баясына 10 мин коюу керек
- Негизги фонду даярдоо: 1000мл дис.суу
- Пептон – 10 гр
- Индикатор Андредэ – 10 мл
- Автоклавта 10-15 мин стерилденнет.
- Канттардын өлчөмү: 100мл – 300млг саха



Сүрөт 3.3.4. *Erwinia amylovora* бактериясынын спирттерди жана дисахариддерди кычкылдандыруусу

Натыйжада, 3-биотипке таандык экендиги аныкталды. Себеби, бул культура дисахариддерди да, спирттерди да кычкылдандырды. Жогоруда көрүнүп тургандай эле, брометил блау индикаторунун катышуусунда целлобиоза, маннит, манноза жана глюкоза кычкылданып, жашыл түстөн сары, ачык сары жана кызгылт түскө өттү. Ал эми Андредэ индикаторун колдонгондо жогоруда айтылган изоляттар агыш түстөн кызыл түскө чейин кычкылданды. Арабиноза-

кызгылт өңдү берип, жакшы байкалды. Глюкоза-ачык кызгылт өңдө, *E.amylovora* маннозаны ажыратпайт, ошондой эле өңү өзгөрүлгөн жок. Целлюлоза аз өлчөмдө кызгылт өң берип өзгөрүлдү (сүрөт 3.3.4.).

Физиологиялык жана биохимиялык касиетин аныктоодо колдонулган ачкычтар. Илдетти аныктоодо дүйнөлүк стандарттагы ачкычтар колдонулат. Мындай ачкыч бактериалдык күйүк үчүн да изилденип чыккан. Бирок көпчүлүк изилдөөлөрдө *Pseudomonas syringae* жана *Pseudomonas cerasi* *Erwinia amylovora* илдет козгогучтары сыркы көрүнүшү, белгилери менен окшош оору козгогондуктан, дароо бактериалдык күйүк же бактериалдык рак деп айтууга болбойт. Бактериалдык күйүкө окшош белгилер байкалса, дүйнөлүк стандарттык ачкычтар менен изилдөө жүргүзүү керек. Бул ачкычка таянып, биз дагы *Pseudomonas syringae* жана *Erwinia amylovora* илдет козгогучтарына тест жүргүздүк. Алмуруттун ооруга чалдыккан органдарынан чогултуп, лабораторияда изилдедик.

Жадыбал 3.3.2.

Бактериалдык күйүккө колдонулган дүйнөлүк стандарттык ачкычтар

Тест	<i>E. amylovora</i>		<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i>	
	Биздин жыйынтык	Стандарт	Биздин жыйынтык	Стандарт
Грам боюнча	-	-	-	-
Кыймылдуулугу	+	+	+	+
Спора п.к.	-	-	-	-
Анаэроб	-	+	-	+
Аэроб	+	+	+	+
Былжыр өсүү	+	+	+	+
Сары пигмент	+	+	+	+

36°C да өсүү	+	-	+	-
Азыкчөйрөдө пигмент пайда кылышы	+	+	-	-
Оксидаза	-	-	-	-
Каталаза	+	+	+	+
Нитрат-ды редукциялоо	-	-	-	-
Желатин	+	+	х	х
Сүтүн пептонизациялоо	-	-	+	+
Глюкоза (аэроб)	+	+	+	+
Лактоза, мальтоза, маннит	-	-	-	-
Сахароза	+	+	+	+
Арабиноза	+	+	+	+
Манноза	-	-	-	-
Целлюбиоза	+	-	+	-
Индол H₂S	-	-	-	-
Уайт методу	+	+	-	-

3.4. *E. amylovora* бактериялык күйүк илдетине каршы тажрыйба талаасында биологиялык агенттерди эффективдүүлүгүн аныктоо ыкмалары

3.4.1. Бактериялык күйүк илдетине каршы биологиялык агенттерди табуу

Агенттерди табууда илдет менен жабыркаган көчөттөр колдонулду. Мында, Гареев атындагы ботаникалык бакчадан жана Айыл чарба тажрыйба талаасынан алмуруттун илдет менен жабыркаган белгилери бар көчөттөрү тандалып алынды. Илдетке чалдыккан үлгүлөрдө бактериялык күйүктүн симптомдоруна дал келген белгилерин байкоого болот. Үлгүлөрдө сабактар карарып, жалбырактары куурап,

соолуп, бирок дарактан үзүлүп түшкөн эмес. Илимий изилдөөдө даана так жыйынтык алуу үчүн, тандалып алынган көчөттөрдөн үлгүлөрдү чогултуп, лабораторияда идентификация жүргүзүлдү. Жыйынтыгында көчөттөр *E. amylovora* оору козгогучу менен жабыркаганы далилденип, патогенге каршы антагонисттерди чачыратуу иштери жүргүзүлдү. Бул үчүн *Streptomyces* штамдарынын SK-6 жана TR-5-9 антагонисттери колдонулду.

3.4.2. Биопрепаратты даярдоо ыкмалары

Биопрепарат даярдоодо актиномицеттер үчүн тандалып алынган, курамында химиялык кошулмалар аралашпаган суюк стерилден өткөн чөйрө даярдалат. Биз лабораторияда сулуунун акшагын тандап алдык. Себеби, сулуунун акшагынан жасалган чөйрөгө актиномицеттерди киргизгенибизде, актиномицеттердин мицелийлери органикалык чөйрөгө салыштырмалуу толук жетилүү убактысы 3-5 күнгө гана созулуп, таза жана күчтүү концентрацияланган колония өсүп чыкты. Петри чөйчөгүндө сакталган *Streptomyces* SK-6 жана TR-5-9 штамдарын от алдынан илгичтин жардамы менен колбадагы 100-120 мл ден куюлган суюк чөйрөлөргө отургуздук (сүрөт 3.4.1.).

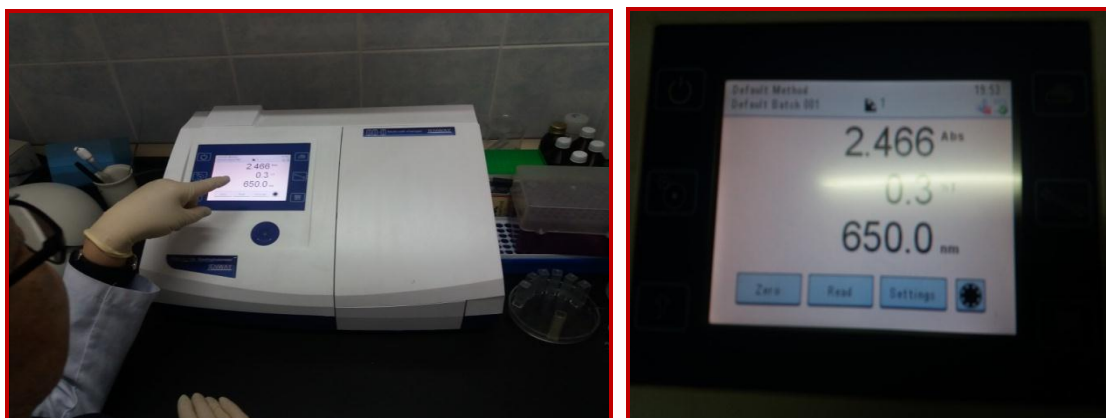


Сүрөт 3.4.1. *Streptomyces* SK-6 жана *Streptomyces* TR-5-9 штамдары (сол жакта) жана алардын суюк суспензиясы (оң жакта)

Колбадагы суюк чөйрөлөрдү $+27-28^{\circ}\text{C}$ температурада шейкерде 4 күндөн - 7 күнгө чейин кармайбыз. 2 күн сайын чайкалып өсүп жаткан актиномицеттерден мазок жасап, микроскоп астында мицелийлердин өсүп-өрчүүсүн жана башка микроорганизмдер кирип кетпегенин көзөмөлдөп турабыз.

3.4.3. Ферментацияланып жаткан биопрепараттын сапатын текшерүү

Биопрепараттын курамындагы мицелийлердин өсүп-өнүгүүсүн микроскоптон көргөндөн тышкары, 1мл биопрепарата канча микроорганизм кармалганын аныктоо үчүн спектофотометрдин жардамы менен изилдөө жүргүздүк (сүрөт 3.4.2.).



Сүрөт 3.4.2. 1 мл биопрепараттын курамындагы микроорганизмдин санын спектофотометрдин жардамы менен аныктоо учуру

3.4.1. жадыбалда көргөзүлгөндөй спектофотометрдик анализдин жыйынтыгында 1 мл биопрепаратта канча микроорганизмдер бар экендиги аныкталган.

Антагонисттердин суюк чөйрөлөрдө камтылган спора жана конидияларынын концентрациясын спектрофотометрде өлчөөдө алынган көрсөткүчтөрү

Антагонисттер:	500нм толкун узундагы өлчөөлөр	Кинетикасы	Чачыратуу өлчөмү
<i>Streptomyces SK-6 (1)</i>	0.199 Abs 63.2%T	0.620-0.605 ppm (10^{-6})	50мл (10^6) + 100мл дист. суу
<i>Streptomyces SK-6 (2)</i>	0.425Abs 37.6%T	0.692-0.693 ppm (10^{-6})	50мл (10^6) + 100мл дист.суу
<i>Streptomyces TR-5-9 (1)</i>	0.151 Abs 70,7% T	0.570-0.555 ppm (10^{-5})	50мл (10^6 /КОЕ)+ 100мл дист.суу
<i>Streptomyces TR-5-9 (2)</i>	0.147 Abs 71.2% T	0.797-0.799 ppm (10^{-6})	50мл (10^5) + 100мл дист.суу

1. **SK-6** штаммынын негизинде органикалык чөйрөдө ферментацияланган биопрепараттын 1 мл де 2,4 млн дон ашык спора жана клеткалар кармалганы аныкталды.
2. **SK-6** штаммынын негизинде сулуу унунан жасалган чөйрөдө ферментацияланган биопрепараттын 1 мл де 3,1 млн дон ашык спора жана клеткалар кармалганы аныкталды.
3. **TR-5-9** штаммынын негизинде органикалык чөйрөдө ферментацияланган биопрепараттын 1 мл де 1,6 млн дон ашык спора жана клеткалар кармалганы аныкталды.

Ошентип спектофотометрдин жардамы менен 1 мл биопрепараттын курамында канча тирүү микроорганизм клеткалары кармалгандыгы аныкталды. Даяр болгон суспензияны алмуруттун:

- Лесная красавица
- Майская

- Факел
- Старкимсон
- Семереченская красавица
- Красивая
- Диканка сортторуна антагонисттер менен чачыратуу иштери жүргүзүлдү.

а) Илдетке чалдыккан көчөттөр *Streptomyces* SK-6 жана TR-5-9 антагонисттери (1×10^6 спора/ мл) менен чачыратылды (сүрөт 3.4.3.).

б) Контроль – 0.01% Tween 80 кармаган суу менен чачыратылды. Сүрөттө көрүнүп тургандай көчөттөр аябай жабыркап, жаш мөмөлөр кургап, карарып, соолуп калган.



Сүрөт 3.4.3. Антибиотиктер менен чачыратуу алдында алмуруттун абалы

Иштин жүрүшү: 7 литр $+30-35^{\circ}\text{C}$ температурадагы дистирленген сууга + 3,5 литр *Streptomyces* SK-6 антагонист жана 3.5 литр *Streptomyces* TR-5-9 кошулуп шейкерде 24 саат аралаштырылды, биопрепарат даяр болду. Ар бир сорттон 3төн

дарак тандалып алынган. Даяр болгон суспензия 2-май 2017-жылы 20-21°C температурада белгиленип алынган көчөттөргө 0,5 литрден чачыратылды. Контроль катары ар бир сорттон бирден тандалып алынып, аларга 0,5 литр дистирленген суу чачыратылды. Антибиотик менен чачыратылган көчөттөргө байкоо жүргүзүлүп, аба температурасы өлчөнүп турду (жадыбал 3.4.2.).

Жадыбал 3.4.2.

Антагонисттер менен чачыратуу жана чачыратуудан кийинки аба-ырайы

Абиотикалык фактор	Чачыратуу учуру	Чачыратуудан 10 күн өткөндөн кийин
Аба температурасы	20-21 ⁰ С	23 ⁰ С
Нымдуулук	48%	43%
Басым	101,71 кПА	699 кПА
Шамал	7км/сек	11км/сек
УФ-индекс	8мин	7мин

Илдет козгогучка каршы антагонисттер менен чачыратууда абиотикалык фактордун мааниси абдан жогору. Анткени чачыратуу учурунда биопрепараттын канча бир пайызы шамаал жана жаан-чаачын аркылуу учуп кетиши мүмкүн. Ошондой эле нымдуулук, аба температурасы чоң роль ойнойт. Мындай жоготуудан калган биопрепарат гана илдет менен күрөшүүгө киришет.



Сүрөт 3.4.4. Алмурут көчөттөрүнө биопрепарат чачыратуу мезгили

Антагонисттер менен чачыратылгандан кийин алардын жабыр тартуу деңгээли жана оору козгогучтун өсүүсү басандаганы байкалды. Булар жалбырактын саналышы жана пайыздык эсеп менен көрсөтүлдү. Антагонистти далилдөө үчүн биопрепарат чачыратылган көчөттөрдөн жалбырактар үзүлүп алынып, КАА жана сулуу чөйрөсүнө отургузулду (сүрөт 3.4.5.). Штаммдар 13 күнгө чейин байкоо жүргүзүлүп, жыйынтык чыгарылды.



Сүрөт 3.4.5.. *Streptomyces* SK-6 жана *Streptomyces* TR-5-9 штаммдарынын колонияларынын чачыратуудан 25 күн өткөндөн кийин алмурут көчөттөрүнүн жалбырактарынын айланасында өсүп чыгышы

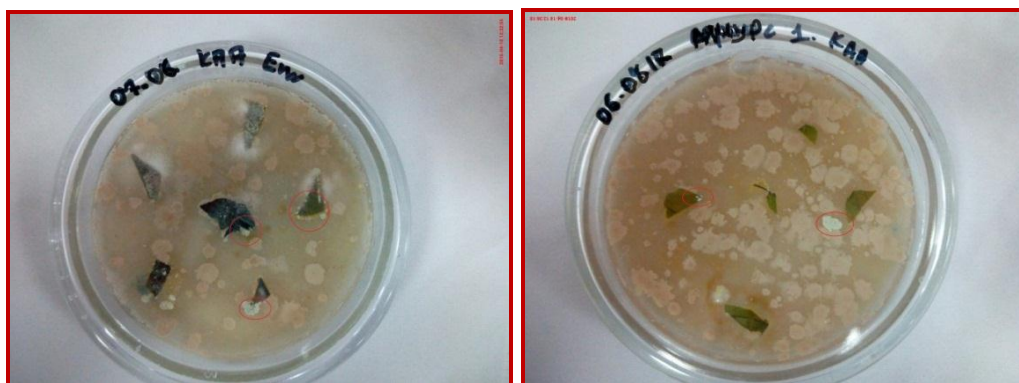
29 күндөн кийин 7 литр дистирленген сууга + 3.5 литр *Streptomyces* SK-6 антагонист жана 3.5 литр *Streptomyces* TR-5-9 кошулуп шейкерде 24 саат аралаштырылып, 2-чачыратуу иштери) аткарылды. Контроль катары тандалып алынган көчөттөргө 1 литр дистирленген суу чачыратылды. Бул чачыратуудан кийин аба-ырайы бузулуп, аябай жаан жаады. Аба-ырай төмөнкү таблицада көрсөтүлдү.

Жадыбал 3.4.3.

Антагонисттер менен чачыратуу жана 2-чачыратуудан кийинки аба-ырайы

Абиотикалык фактор	Чачыратуу учуру	Чачыратуудан 10 күн өткөндөн кийин
Аба температурасы	25 ⁰ С	17 ⁰ С
Нымдуулук	41%	63%
Шамал	7км/сек	18км/сек

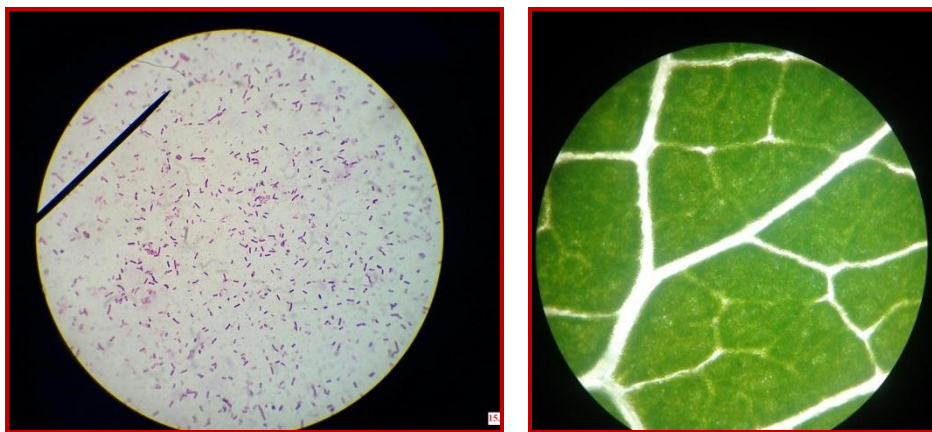
Ал эми антагонистти далилдөө үчүн биопрепарат чачыратылган көчөттөрдөн жалбырактар үзүлүп алынып, КАА жана сулуу агарына чөйрөсүнө отургузулду. Штаммдар 20 күнгө чейин байкоо жүргүзүлүп, жыйынтык чыгарылды.



Сүрөт 3.4.6. *Streptomyces* SK-6 жана *Streptomyces* TR-5-9 штаммдарынын колонияларынын чачыратуудан 25 күн өткөндөн кийин алмурут көчөттөрүнүн жалбырактарынын айланасында өсүп чыгышы

Июнь айынын 3-декадасында жогоруда көрсөтүлгөн курамдагыдай эле 7 литр дистирленген сууга + 3.5 литр *Streptomyces* SK-6 антагонист жана 3.5 литр

Streptomyces TR-5-9 кошулуп шейкерде 24 саат аралаштырылып, 3-чачыратуу иштери) аткарылды. Контроль катары тандалып алынган көчөттөргө 1 литр дистирленген суу чачыратылды. 3-чачыратуу жүргүзүлгөн мезгилде аба температурасы 30-35⁰С га жогорулап, нымдуулук 30%ке төмөндөгөн. Антагонисттер менен чачыратылган көчөттөрдөн 5тен даана жалбырак чогултулуп, лабораторияга алынып келинди. Жалбырактан мазок жасалып жана кесиндилер даярдалып, түздөн-түз микроскоптон каралды (сүрөт 3.4.7.).



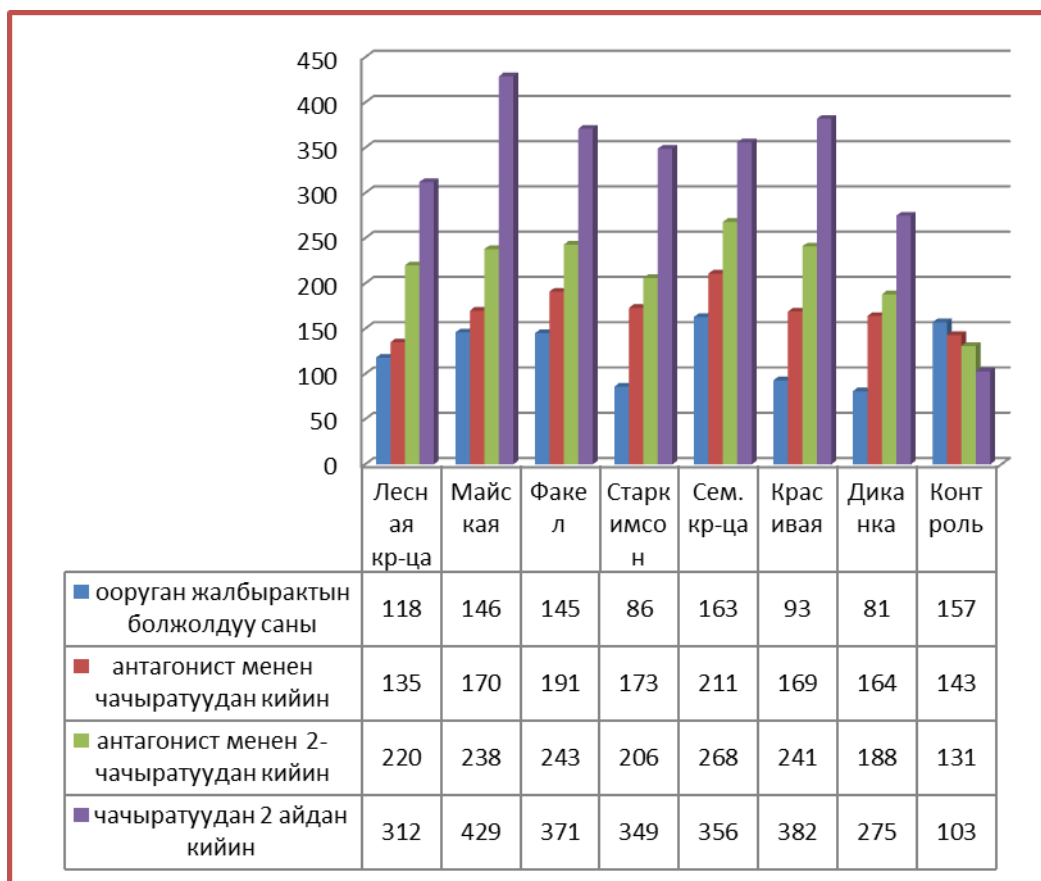
Сүрөт 3.4.7. Алмуруттун жалбырагынан препарат даярдалып, микроскоп астынан көрүнүшү

Натыйжада ооруган жалбырактарда бактериалдык күйүктүн өсүүсү басандаганы, азайганы, кээ бир көчөттөр толугу менен айыкканы байкалды. Мисалы: алмурут көчөттөрүнүн антагонист менен чачыратууга чейин жалбырактардын саны болжол менен Лесная красавица – 118, Майская – 146, Факел-145, Старкимсон - 86, Семереченская красавица – 163, Красивая -93, Диканка – 81, контролдо -157 болду (жадыбал 3.4.4.). Антагонисттер менен 1-чачыратуудан кийин жалбырактардын саны жогорулады. Башкача айтканда көчөттүн 28% пайызга оорудан арылды. Ал эми контролдо 10 жалбырака азайды же 3% пайызга төмөндөдү. Антагонисттер менен 2-чачыратуудан же 2 айдан кийин жалбырактардын некротикалык тактары жоголуп, кайрадан калыбына келип, жалбырактарынын саны жогорулаганы көрүндү. Мисалы, Лесная красавица – 312, Майская – 429, Факел - 371, Старкимсон - 349, Семереченская красавица – 356, Красивая -382, Диканка – 275, ал эми контролдо антагонист колдонулбагандыктан - 103 кө чейин төмөндөп, көчөттүн 23%ы жоготууга

учурады. Бул жалбырактардын патогенге карата коргоо реакцияларынын көрүнүшү менен байланыштуу.

Жадыбал 3.4.4.

Илдет козгогуч менен чачыратууга чейинки жана андан кийинки жалбырактардын саны



Антагонисттер менен чачыратылгандан кийин алардын жабыр тартуу деңгээли жана оору козгогучтун өсүүсү басандаганы байкалды. Булар жалбырактын саналышы жана пайыздык эсеби менен көрсөтүлдү. Жогорку жыйынтыкты *Streptomyces* SK-6 жана *Streptomyces* TR-5-9 штаммдары көрсөттү. Чөйрөнүн бетин каптап өсүп, *Erwinia amylovora* культурасына каршы эки культуранын тең күчтөрү бирдей болгону далилденди. Көчөттөр толугу менен илдет козгогучтан арылышып, айыгып калыбына келди. Көчөттөрдө *Erwinia amylovora* таякчалары актиномицеттер менен желгендиктен, дээрлик жокко эсе болду (сүрөт 3.4.8.).



Сүрөт 3.4.8. Актиномициттер менен чачыратылгандан кийин илдет козгогучтан арылган алмуруттун көчөттөрү

3.5. Лабораториялык шартта *Erwinia amylovora* бактериясын жасалма жугузуу менен мөмөгө киргизүү же Уайт ыкмасы

Изилдөөдө Уайт ыкмасы менен тест жүргүздүк. Диагноз коюуда башкы этап – бул сырткы белгилери боюнча илдеттин тибин аныктоо. Айрым учурларда сырткы белгилерди комплекстүү изилдеп кароо менен илдеттин себебин так айтууга мүмкүн эмес. Илдеттин пайда болуу себебин жана козгогучту аныктоо – бул илдетке каршы күрөшүү иш чараларды жүргүзүүдө чечүүчү ролду ойнойт.

Диагноз коюуда төмөнкү белгилерди эске алуу керек:

- 1) оорулуу өсүмдүктүн динамикадагы сырткы белгилери;

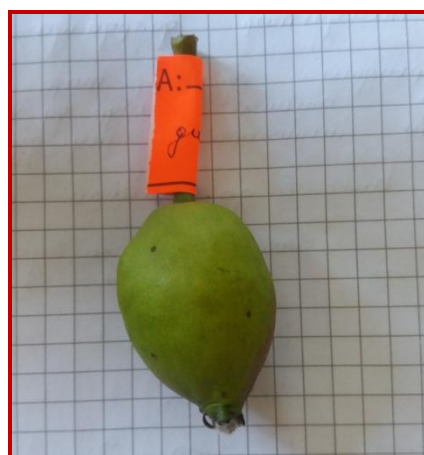
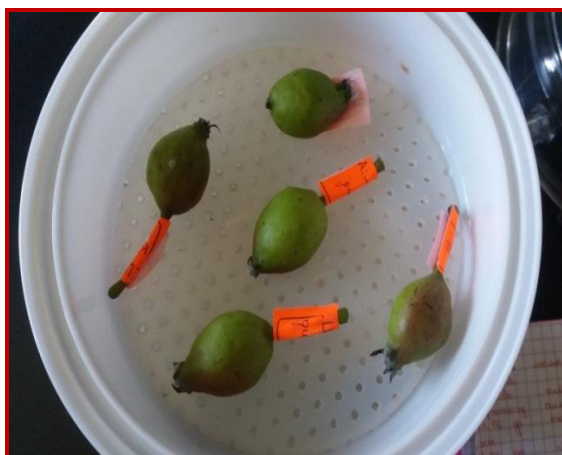
- 2) оорулуу ткандардын түзүлүшүнүн өзгөрүшү;
- 3) өсүмдүктө жүрүп жаткан нормалдуу физиологиялык процесстердин бузулушу;
- 4) өсүмдүктүн илдетинин себеби;
- 5) илдет козгогучту, анын систематикалык абалын, биологиясын, экологиясын аныктоо.

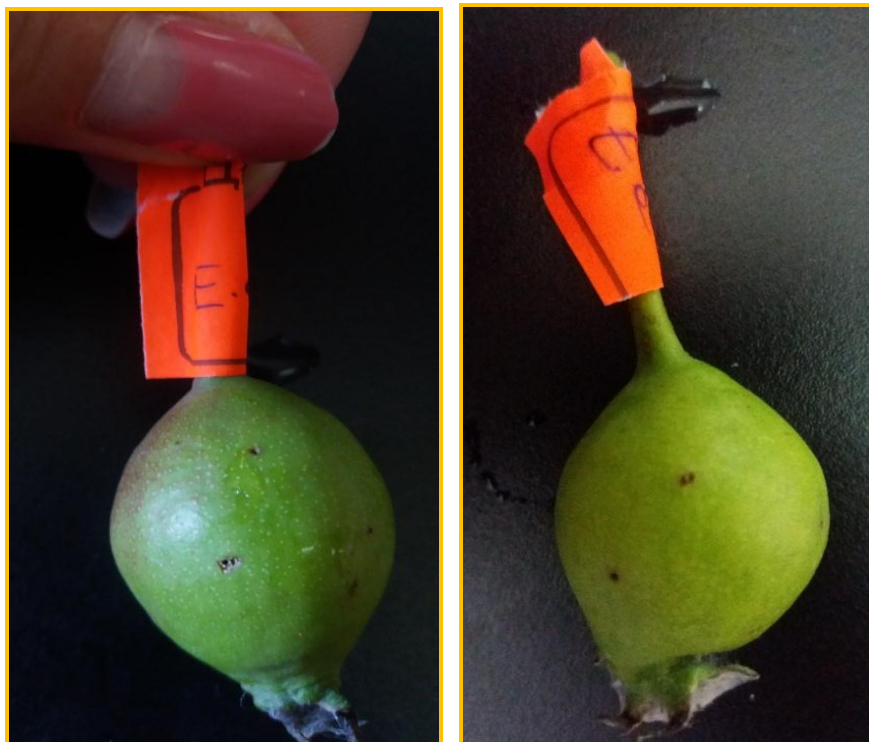
Бул максатта биологиялык ыкма – илдеттин жүрүшүнүн өзгөчөлүгүн салыштырмалуу байкоого, керек болгон учуда жасалма жугуштуруу менен патологиялык процесстин динамикасын, сырткы факторлордун таасирин көрсөткөн көрсөткүчтөр колдонулат. Алардын арасында өсүмдүк-ээлерине көчүрүү менен бактерияларды чогултуу эң маанилүү ыкмалардын бири. Көп учурларда фитопотогендик бактериялар экинчилик микроорганизмдер менен тыгыз катнашта, ошондуктан аларды жабыркаланган ткандан бөлүп алуу кыйын. Бөлүп алуу үчүн өсүмдүк-ээлерине көчүрүү менен бактерияларды чогултуу талап кылынат. Бул ыкманы биз да өз изилдөөлөрбүздө колдондук.

Бул үчүн *E. amylovora* оору козгогучунун 24-48 сааттык культурасын 10мл стерилденген сууда аралаштырып, суспензиясы даярдалды. Шприцтин жардамы менен алмуруттун Лесная красавица, Майская, Факел, Старкимсон, Семереченская красавица, Красивая жана Диканка сортторунун мөмөсүнө киргизилди. Башка микроорганизмдер кирип кетпеши үчүн жузугуу Ламинар Бокс аппаратында аткарылды. Ар бир сорттон 3төн мөмө колдонулду. Жугушулган мөмөлөр (сүрөт 3.5.1.) нымдуу камерага, бөлмө температурасына коюлду. Эгерде бактерия культурасы чындыгында эле фитопатоген болсо, анда 12-48 сааттар ичинде жабыркаткан мөмөлөрдө экссудат пайда болот.



Сүрөт 3.5.1. *E. amylovora* илдет козгогучу менен жугушулган алмуруттун мөмөлөрү

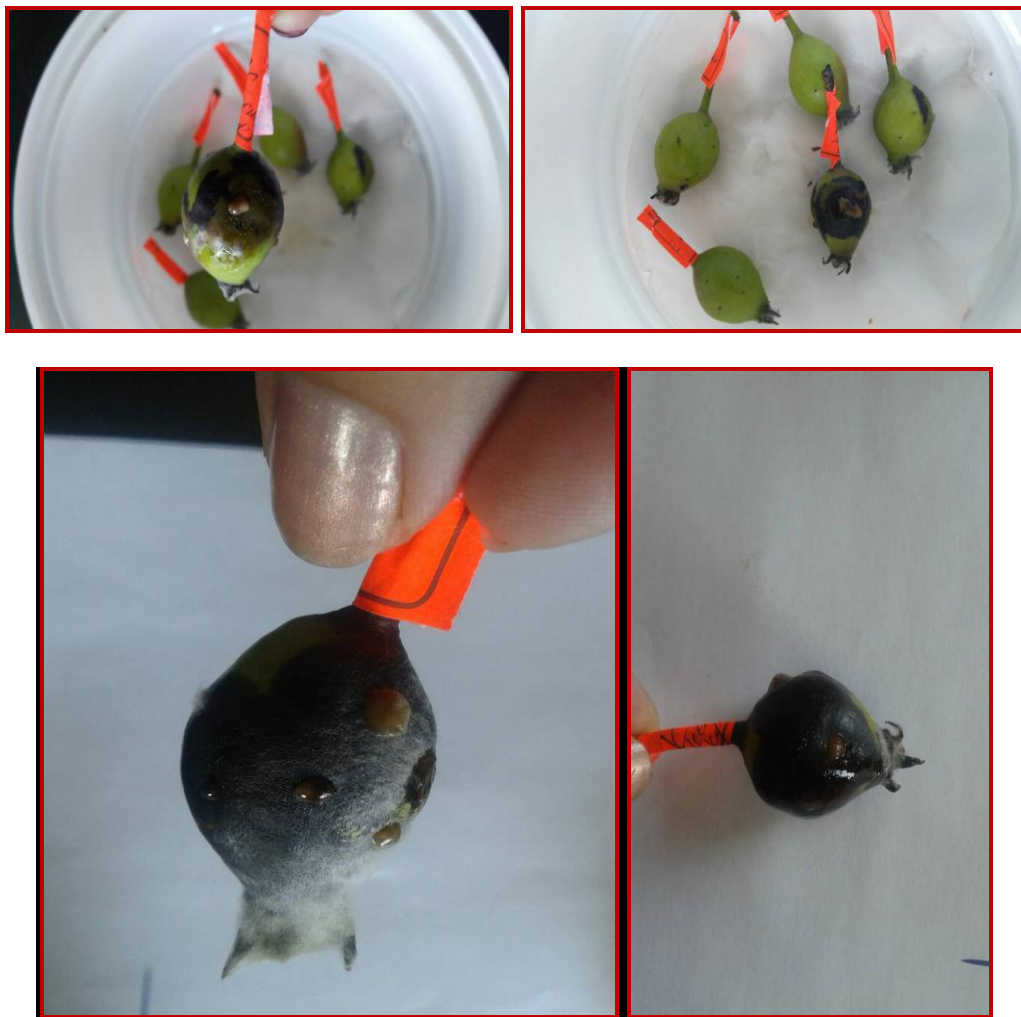




Сүрөт 3.5.2. Жугушулган мөмөлөрдүн 15 сааттан кийинки абалы

Бул тажрыйбанын натыйжасы көрсөткөндөй 3-4 суткадан кийин мөмөлөрдө экссудат пайда болду. Төмөнкү сүрөттө көрүнүп тургандай мөмөлөрдө бозоргон-агыш түстөгү экссудат пайда болуп, мөмө толугу менен карарып калды. Бул бактериалдык күйүк илдетинин негизги белгиси болуп саналат. Демек, бул алынган жыйынтык биз бөлүп алган бактериянын изоляты фитопатогендик касиетке ээ экендигин далилдеди.





Сүрөт 3.5.3. Бактериалдык күйүк менен жугузулган алмуруттун мөмөлөрү 3-4 күндөн кийинки агыш-боз жана күрөң экссудат бөлүп чыгарышы

Уайт методу *E. amylovora* бактериясын изилдөөдө жөнөкөй жана так аныктап бере турган ыкма [23, 24]. Бул илимий-иш чараларда биринчи колдонулган ыкма болуп эсептелинет. Себеби, патогенди аныктагандан кийин ишти андан ары улантканга жеңил болот. Ошондой эле аз убакыт ичинде аткарыла турган иш. Бул тест аткаруу учурунда белгилеп кетчү нерсе, мөмөлөр антагонист менен чачыратылбаган көчөттөрдөн чогултулуп алынган.

3.6. Алмуруттун бактериалдык күйүк илдеттерине каршы интеграциялык ыкмалар

3.6.1. Алмуруттун бактерия күйүгүнө каршы механикалык ыкмаларды колдонуу

Айыл чарба тажрыйба талаасындагы жана Гареев атындагы ботаникалык бакчадагы алмуруттун көчөттөрүнө биологиялык коргоодон кийин, механикалык иш жүргүзүлдү. Бул ыкма илдетти алдын алуу болуп эсептелет. Бактерия күйүгүнө каршы механикалык ыкмада төмөндөгүдөй иш-чаралар талап кылынды.

- Түшүм жыйналгандан кийин сактоого алынган алмуруттун мөмөлөрүнүн жаракат, тешик болгондорунан арылтылды.
- Эрте жазда жана кеч күздө дарактарда куурап калган бутактары, мумификацияга учурап кышы менен калып калган мөмө жана жалбырактар жок кылынып, өрттөлдү.
- Бактериянын өсүшү төмөнкү муздатылган температурада өтө жай болот. Ошондуктан мөмөлөрдү 0°C температурасында сактоо. Суу муздаткыч азыркы учурда Америкада шабдалыны сактоодо кеңири колдонулат.
- Кампа жана сактоо жайларын түшүмдү киргизүүнүн алдында дезинфекциялоо
- Дарактарда инфекциялардын пайда болушуна шарт түзгөн жаракаларды пайда кылуучу курт – кумурскаларга каршы күрөшүү *Erwinia amylovora* ны натыйжалуу контролдоодо чоң мааниге ээ. Мөмөлөр механикалык жабырланууга дуушар болгондон кийин фунгициддер таасир бере алышпайт. Алма күбөсү, биттер жана башка зыянкечтерден сактоо, алардын илдетке жол берүүсүнүн алдын-алуусу
- Эгерде бутактарын кесүү менен даракты сактап калууга мүмкүн болбосо, анда тамыры менен жулуп өрттөө керек
- Агротехникада колдонулган жабдыктарды дезинфекциялоо
- Ооруга туруктуу жана таза көчөттөрдү отургузуу

КОРУТУНДУЛАР

Жасалган изилдөөлөрдүн негизинде төмөнкү негизги корутундуларды алдык:

1. Аба температурасы 18°C дан жогорулагандан баштап, ботаникалык бакча жана айыл чарба тажрыйба талаасына байкоо жүргүзүлүп, үлгүлөр чогултулуп алынды.
2. Үлгүлөрдөн илдет козгогуч бөлүп алуу үчүн азык-чөйрөлөргө отургузулуп, Уайт жана Рью ыкмалары колдонулду.
3. Бактериалдык күйүк Петри чөйчөгүнүн бетин толук жаап аябай жыш санда колония өсүп чыкты. Бактериалдык күйүк үчүн ЭПА чөйрөсүн колдонсок, 20% гана натыйжа ала алабыз, Кинг Б азык чөйрөсү 50-60% дык натыйжа берет, ал эми Леван чөйрөсү менен 80-90% ишти так аткарууга жана илдет козгогучтун таза культурасын бөлүп алууга болот деген жыйынтык чыгара алдык.
4. Айыл чарба факультетинин лабораториясында патогендүүлүгүн аныктоочу тест жүргүзүлүп, 2 суткадан кийин некроз тактары жана экссудат бөлүнүп чыкканын байкадык. Изилденип жаткан илдет козгогуч *Erwinia amylovora* экенин тактыктадык. Себеби некроз каптап бирок экссудат болунбосо анда - *Pseudomonas syringae* илдет козгогучу деген жыйынтык алмакбыз. Анткени 2 илдет козгогучтун белгилери экссудат бөлүнүүсү менен айырмаланат.
5. Илдет козгогучтун таза культурасын аныктоодо дүйнөлүк стандарттык ачкычтар колдонулуп, 90% бактериалдык күйүк экени далилденди.
6. *Streptomyces* SK-6 жана *Streptomyces* TR-5-9 штамдарын алмуруттун бактериалдык күйүк илдетине каршы колдонулуучу биопрепаратты түзүүгө сунуштоого боло тургандыгын далилдеген натыйжалар алынды.
7. Бактерия күйүк илдетине каршы бул биопрепараттарды колдонууну дагы жаз айында жалбырактар жана гүлдөр ачылган мезгилде илдеттин симптомдору жаңыдан башталып өнүгө баштаганда абанын температурасы

18 -23⁰ С чектеринде жүргүзүп, жана ар бир 10 күндөн кийин 3 жолу кайталап чачыратуу менен илдеттен толук арылууга жетише тургандыгы көрүндү

8. Интеграциялык ыкманын бир маанилүү звеносу болуп күзүндө 3%-түү Бордо суюктугу менен чачыратуу, илдет күчөп кеткенде жез купорусунун 1%-түү эритмеси менен чачыратуу.
9. Биопрепараттарды бактериялык күйүккө каршы колдонгондо, илдеттин басаңдашы жана токтошу бир нече күндөн кийин байкалды, бирок антагонист организмдер жалбырактардын катып калышын чакырган жок, мындай жалбырактар кайрадан жаңырып өсүп өнүгүүгө жөндөмдүү болуп, толугу менен айыгып калыбына келди.

КОЛДОНУЛГАН АДАБИЯТТАР

- [1]. (Jones and Aldwinckle, 1990; Leeuwen et al., 2000).
- [2] департамент химизации обзор 2014г 1. Van der Zvet T., Keil H. Fire blight: a bacterial disease of rosaceous plants. U.S. Department of Agriculture, Washington D.C., 1979. P. 200.
- [3] Билай В.И. и др. Микроорганизмы – возбудители болезней растений. Киев: Наукова думка, 1988. 552 с.
- [4] 24. Егоров, Н.С. Выделение микробов- антагонистов и биологические методы учета их антибиотической активности / Н.С. Егоров. – М.: Изд-во МГУ, 1957. – 78
- [5] Об отмене эмбарго. на сайте газеты "Коммерсантъ" Украина (10 августа 2010). Архивировано из первоисточника 11 июля 2012.
- [6] Magher M., Kostru M. Fire blight of fruit cultures in the Republic of Moldova. In: Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Алелопатія: Збірник статей учасників міжнар. наукової конференції, м. Київ, 2005, с. 68-70.
- [7] Bereswill St. et al. Identification of *Erwinia amylovora* by growth morphology on agar containing copper sulfate and by capsule staining with lectin. In: Plant Disease, 1998, vol.82, nr. 2, p.158-164.
- [8] .Goto M. Fundamentals of bacterial plant physiology. NY: Academic Press, 1992. 342 p.
- [9]. Boul'e J. et al. Isolation and characterization of eight bacteriophages infecting *Erwinia amylovora* and their potential as biological control agents in British Columbia, Canada. In: Canadian Journal of Plant Pathology, 2011, vol. 33, nr. 3, p. 308–317.

- [10]. Bellemann P., Geider K. Localization of transposon insertions in pathogenicity mutants of *Erwinia amylovora* and their biochemical characterization. In: Journal of General Microbiology, 1992, vol.138, p.931–940.
- [11]. Müller I., et al. Complete genome sequences of three *Erwinia amylovora* phages isolated in North America and a bacteriophage induced from an *Erwinia tasmaniensis* strain. In: Journal of Bacteriology, 2011a, vol.3, nr. 193, p. 795–796.
- [12]. Born Y. et al. Novel virulent and broad-host-range *Erwinia amylovora* bacteriophages reveal a high degree of mosaicism and a relationship to Enterobacteriaceae phages. In: Applied Environmental Microbiology, 2011, vol. 77, p.5945-5954. 143. Lee S. A. et al. Virulence characteristics accounting for fire blight disease severity in apple trees and seedlings. In: Phytopathology, 2010, vol.100, nr. 6, 539-550.
- [13]. . Johnson K. B. et al. Strategy for non-antibiotic fire blight control in U.S.-grown organic pome fruit. In: 13th ISHS Int. Fire Blight Workshop, abstract book, 2013, p.27.
- [14]. Pusey P.L., Stockwell V.O., Rudell D.R. Antibiosis and acidification by *Pantoea agglomerans* Strain E325 may contribute to suppression of *Erwinia amylovora*. In: Phytopathology, 2008, vol. 98, nr.10, p. 1136-1143.
- [15]. Wilson M. Lindow S. E. Interactions between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms. In: Phytopathology, 1992, vol. 83, p. 117-123.
- [16]. Zhao Y., Blumer S.E., Sundin G.W. Identification of *Erwinia amylovora* genes induced during infection of immature pear tissue. In: J. of Bacteriology, 2005, vol. 187, nr. 23, p. 8088-8103.
- [17]. Mizuno A., Sato S., Kawai A. Serological differences among *Erwinia amylovora* biovars. In: Journal of General Plant Pathology, 2002, vol. 68, nr. 4, p. 350-355.
- [18]. Brogginì G.A.L. et al. Detection of the fire blight biocontrol agent *Bacillus subtilis* BD170 (Biopro) in a Swiss apple orchard. In: European Journal of Plant Pathology, 2005, vol. 111, p. 93-100.

- [19]. Proux C. et al. The dilemma of phage taxonomy illustrated by comparative genomics of Sfi21-like Siphoviridae in lactic acid bacteria. In: J. of Bacteriology, 2002, vol.184, nr. 21, p. 6026-6036.
- [20]. Ozaktan H. et al. Integrated control of fire blight in a pear orchard in Turkey using prohexadione-Ca and bacterial antagonists. In: Acta Hort. (ISHS), 2011, vol.896, p.441-446.
- [21]. Loncaric I. et al. Strain-specific detection of two *Aureobasidium pullulans* strains, fungal biocontrol agents of fire blight by new, developed multiplex-PCR. In: Journal of Applied Microbiology, 2008, vol.104, p. 1433–1441.
- [22]. Badosa E. et al. Prospects and limitations of synthetic antimicrobial peptides for fire blight control. In: 13th ISHS International Fire Blight Workshop abstract book, 2013
- [23]. De Zoysa, G et al. A mechanistic investigation into the inhibition of growth and biofilm formation in *Erwinia amylovora* by non-protein amino acids. In: Acta Hort. (ISHS), 2011, vol.896,
- [24]. Smith T. J. Fire blight: barriers to control in the past and present; future control strategies. In: 13th ISHS Int. Fire Blight Workshop abstract book, 2013
- [25]. Valentini F., Krasniqi N., Djelouah K. Assessment of the sanitary status of pome fruit crops in Kosovo, with particular emphasis to the bacterial disease the fire blight. In: 13th ISHS International Fire Blight Workshop abstract book, 2013,
- [26]. Walters M., Sperandio V. Autoinducer 3 and epinephrine signaling in the kinetics of locus of enterocyte effacement gene expression in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In: Infection and Immunity, 2006,
- [27]. Wang D., Korban S.S., Zhao Y. Molecular signature of differential virulence in natural isolates of *Erwinia amylovora*. In: Phytopathology, 2010
- [28]. Weitz J. S., Wilhelm S.W. Ocean viruses and their effects on microbial communities and biogeochemical cycles. In: F1000 Biology Reports, 2012

ӨМҮР БАЯН

ЖЕКЕ МААЛЫМАТ

Аты жөнү	Тынчтыкгүл Бакытова
Улуту	Кыргыз
Туулган жылы	27.04.1994
Телефон	+996700350550
E-mail	Bakytovat@mail.ru

БИЛИМИ

Даража	Окуу жайы	Бүтүргөн жылы
Магистратура	Кыргыз-Түрк «Манас» университети, Табигый илимдер институту, Өсүмдүктөрдү коргоо багыты	2018
Бакалавриат	Кыргыз-Түрк «Манас» университети, Айыл-чарба факультети Өсүмдүктөрдү коргоо бөлүмү	2016
Орто мектеп	№13 королиев орто мектеби, Ысык көл областы, Түп району, Чоң-Таш айылы	2011

ЧЕТ ТИЛ

- Орусча
- Түркчө
- Англисче