



UDK: 579.67

Dildora SHODIYEVA,

O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti tayanch doktoranti

E-mail: dildoraannayeva786@gmail.com

Liliya ABDULMYANOVA,

O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti y.i.x., b.f.d

E-mail. a_1_i_2020@mail.ru

SamDU PhD Sh. Axanbayev taqrizi asosida

ADAPTATION PROPERTIES OF ENDOPHYTIC YEASTS TO VARIOUS STRESS CONDITIONS

Annotation

Endophytic yeasts are microorganisms that inhabit the internal tissues of plants and are adapted to various environmental stress factors. In this study, the adaptive properties of endophytic yeast strains isolated from different plant organs were investigated under temperature, salinity (NaCl), and pH conditions. The ability of the strains to produce biomass at 20 °C, 28 °C, and 40 °C was evaluated, as well as their growth activity at NaCl concentrations ranging from 0 to 20% and pH values of 3, 7, and 9. The results demonstrated that 28 °C is the optimal temperature for all tested strains. Growth was maintained under 5–15% NaCl conditions, whereas tolerance to 20% NaCl was observed only in certain strains. At neutral pH 7, all strains exhibited good growth, while some strains also showed adaptation to alkaline conditions. These findings confirm the ecological adaptability of endophytic yeasts and highlight their biotechnological potential.

Keywords: endophytic yeasts, temperature stress, NaCl, pH, biomass, adaptability

АДАПТАЦИЯ ЭНДОФИТНЫХ ДРОЖЖЕЙ К РАЗЛИЧНЫМ СТРЕССОВЫМ УСЛОВИЯМ

Аннотация

Эндофитные дрожжи являются микроорганизмами, обитающими во внутренней среде растений и адаптированными к различным экологическим стрессовым факторам. В данном исследовании изучены адаптационные свойства эндофитных дрожжевых штаммов, выделенных из различных частей растений, к воздействию температуры, солёности (NaCl) и pH среды. Оценивалась способность штаммов образовывать биомассу при температурах 20 °C, 28 °C и 40 °C, а также их ростовая активность при концентрациях NaCl от 0 до 20% и значениях pH 3, 7 и 9. Результаты показали, что для всех штаммов оптимальной температурой является 28 °C. В условиях солёности 5–15% NaCl рост сохранялся, тогда как при 20% NaCl устойчивость проявили лишь отдельные штаммы. При нейтральном значении pH 7 все штаммы демонстрировали хороший рост, в то время как некоторые из них также показали адаптацию к щелочной среде. Полученные результаты подтверждают экологическую адаптивность эндофитных дрожжей и их биотехнологический потенциал.

Ключевые слова: эндофитные дрожжи, температурный стресс, NaCl, pH, биомасса, адаптивность

ENDOFIT ACHITQILARNING TURLI STRESS SHAROITLARIGA MOSLASHISH XUSUSIYATLARI

Annotatsiya

Endofit achitqilar o'simlik ichki muhitida yashab, turli ekologik stress omillariga moslashgan mikroorganizmlar hisoblanadi. Ushbu tadqiqotda o'simliklarning turli qismlaridan ajratib olingan endofit achitqi shtammlarining harorat, tuzlilik (NaCl) va pH omillariga moslashish xususiyatlari o'rganildi. Shtammlarning 20 °C, 28 °C va 40 °C haroratlarda biomassa hosil qilish qobiliyati hamda NaCl ning 0–20% konsratsiyalari va pH 3, 7 va 9 sharoitlarida o'sish faolligi baholandi. Natijalar barcha shtammlar uchun 28 °C optimal harorat ekanligini ko'rsatdi. Tuzlilik bo'yicha 5–15% NaCl sharoitida o'sish saqlangan bo'lsa, 20% NaCl faqat ayrim shtammlar uchun bardoshli bo'ldi. Neytral pH 7 da barcha shtammlar yaxshi o'sish namoyon etdi, ayrim shtammlar esa ishqoriy muhitga ham moslashganligini ko'rsatdi. Olingan natijalar endofit achitqilarning ekologik moslashuvchanligini va ularning biotexnologik potensialini tasdiqlaydi.

Kalit so'zlar: endofit achitqilar, harorat stressi, NaCl, pH, biomassa, moslashuvchanlik

Kirish. Butun dunyoda endofit mikroorganizmlarga qiziqish ortib borish fonida ularni turli o'simliklarning turli qismlaridan ajratib olish bugungi kunda sezilarli darajada ko'tarilgan deyish mumkin.

Mavzuga oid adabiyotlar tahlili. Tabiiy muhitdagi turli o'zgarishlar, jumladan: o'simlikning ichki muhit sharoitlari ham endofit achitqilarning o'simlikda uchrash miqdoriga va tur tarkibiga ta'sir etuvchi vosita bo'lib hisoblanadi. Muhit omillari: pH, ozuqa moddalari, harorat, namlik, quyosh nurlanishi, yog'ingarchilikning mavsumiy o'zgarishlari kabi atrof-muhit omillari o'simliklarning achitqi miqdori va tur tarkibiga sezilarli darajada ta'sir qiladi[1].

Jumladan, ushbu ma'lumotlarni kuz va bahorda uzumdan ajratib olingan endofit achitqilarning miqdori ham mos ravishda 41,67% va 25% ni tashkil etganligi kuzatildi[2]. Bu mavsumiy o'zgarishlar endofit achitqilarning soni va jamoasiga katta ta'sir ko'rsatishini isbotlaydi[3]. Qiziq tadqiqotlardan biri, agrokimyoviy moddalar achitqi miqdori, tarkibiga salbiy ta'sir etishi aniqlandi. Kuzgi bug'doyni kuchli fungitsidlar bilan ishlov berilishi achitqi koloniyalarini 85% gacha kamaytirgani aniqlandi[4]. Harorotga nisbatan ham endofit achitqilar chidamli bo'lib, bunda *Pichia kudriavzevii* va *Pichia kluveri* achitqi shtammlari yuqori haroratga

chidamliligi uchun ham sanoat miqyosida yuqori haroratli fermentatsiya jarayonlarida foydalaniladi [5,6,7]. Ushbu tadqiqotda endofit achitqilarning turli muhit sharoitlariga (harorat, pH, tuzli muhit,) moslashish qobiliyati va bu orqali ularning biotexnologik potentsialini belgilash maqsad qilib qo'yilgan.

Tadqiqot metodologiyasi. O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti "Fiziologik faol birikmalarning biokimyo va biotexnologiyasi" laboratoriyasida o'simliklarning generativ va saqlash qismlaridan endofit achitqilar ajratib olindi. Bahorda o'sish va meva berishni boshlagan o'simliklarning mevalari va atrof-muhit harorati keskin ko'tarilgan, kunlar uzaygan vaqtidagi mevalar va kuzgi harorat tushgan holatda qolgan mevalar olindi.

Aniqroq identifikatsiya uchun izolyatlar asl ajratish sharoitlarida ikki marta subkultivatsiya qilindi. MALDI-TOF MS tahlili sof kulturaviy uchinchi avlodda 4800 Plus MALDI TOF/TOF™ Analyzer (AB SCIEX, Framingham, MA, USA) da oldin tasvirlanganidek (Welham va b., 2020) amalga oshirildi. Barcha izolyatlar abiotik stress omillari, jumladan pH, tuz konsentratsiyasi va harorat ta'siriga chidamliligini aniqlash maqsadida tekshirildi. Har bir tajriba kamida uch martadan takrorda olib borildi.

Tuz stressiga chidamlilik. Tuzga chidamlilikni aniqlash uchun 5,10,15,20% natriy xlorid (NaCl) qo'shilgan SDA-saburo dektrozali agar muhitlari tayyorlandi. Sinov endofitlari 2 hafta davomida mos inkubatsiya sharoitida saqlandi. Inkubatsiya yakunida izolatlarining o'sish darajasi vizual tarzda baholanib, qayd etildi.

pH stressiga chidamlilik. pH ga chidamlilikni aniqlash uchun SDA-saburo dektrozali agar muhitining pH qiymati 3,7,9 gacha bo'lgan oralikda sozlandi. Muhit pH qiymatlari muzlatilmagan sirka kislotasi yordamida moslashtirildi. Test kulturalari muhitga inokulyatsiya qilinib, 1 hafta davomida inkubatsiya qilindi.

Harorat stressiga chidamlilik. Haroratga chidamlilikni aniqlash uchun test organizmlar bilan inokulyatsiya qilingan SDA li petrilarda 15 °C, 28 °C va 40 °C haroratlarda inkubatsiya qilindi[8]. Belgilangan muddat davomida izolatlarining o'sish holati kuzatildi va qayd etildi.

Tahlil va natijalar. MALDI-TOF MS tahlili natijalariga ko'ra, 8 ta endofit achitqi izolatidan faqat 3 tasi tur darajasida aniqlandi. 021 va 026 izolatlari mos ravishda *Morus nigra* va *Prunus armeniaca* mevalaridan ajratilgan bo'lib, *Metschnikowia pulcherrima* sifatida identifikatsiya qilindi. 03 izolat esa *Prunus persica* mevasidan ajratilib, *Meyerozyma guilliermondii* sifatida aniqlandi. Qolgan izolatlar (022, 023, 027, 028 va 02) uchun MALDI-TOF MS orqali ishonchli identifikatsiya olinmadi, bu ularning spektrlar bazasida mavjud emasligi yoki yaqin taksonlar bilan yuqori o'xshashlikka ega bo'lishi bilan izohlanishi mumkin.

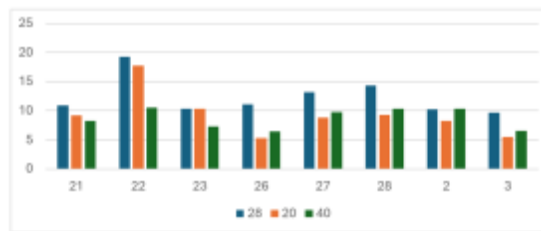
1-jadval. Endofit achitqilar ajratib olish va identifikatsiyalash.

	Izolyatlar	Olingan manbaa	O'simlik qismi	MALDI-TOF MS identifikatsiya natijasi
1	021	<i>Morus nigra</i>	Meva	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>
2	022	<i>Aloe vera</i>	Barg	Aniqlanmadi
3	023	<i>Prunus cerasus</i>	Meva	Aniqlanmadi
4	026	<i>Prunus armeniaca</i>	Meva	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>
5	027	<i>Prunus armeniaca</i>	Meva	Aniqlanmadi
6	028	<i>Aloe vera</i>	Barg	Aniqlanmadi
7	02	<i>Prunus cerasus</i>	Meva	Aniqlanmadi
8	03	<i>Prunus persica</i>	Meva	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>

O'tkazilgan tajribalar natijasida endofit achitqi shtammlarining o'sishi va biomassa hosil qilishi muhit sharoitlariga bevosita bog'liq ekanligi aniqlandi. Barcha shtammlar 28 °C da maksimal biomassa hosil qilgan bo'lsa, 20 °C va 40 °C da biomassa miqdori nisbatan kamaydi. Tuzlilik bo'yicha 5–15% NaCl sharoitlari aksariyat shtammlar uchun mos bo'lib, 20% NaCl faqat ayrim shtammlarda cheklangan o'sishni ta'minladi. pH bo'yicha esa neytral muhit (pH 7) barcha shtammlar uchun optimal bo'lib, ayrim shtammlarning ishqoriy muhitga moslashganligi kuzatildi(2-jadval).

2-jadval. Endofit achitqilarning turli haroratda biomassa hosil qilishi (gr/l)

	Izolyatlar	Biomassa (gr/L) 28 °C	Biomassa (gr/L) 15 °C	Biomassa (gr/L) 40 °C
1	021	10.93	9.17	8.2
2	022	19.29	17.73	10.5
3	023	10.32	10.3	7.3
4	026	11.06	5.3	6.4
5	027	13.15	8.8	9.8
6	028	14.32	9.3	10.3
7	02	10.26	8.2	7.3
8	03	9.71	5.5	6.5



1-rasm. Endofit achitqilarning turli haroratda biomassa hosil qilishi (gr/l) (28°C, 20°C va 40°C).

Muhokama sifatida aytish mumkinki, 28 °C da biomassaning ko'p miqdorida hosil bo'lishi endofit achitqilar uchun ushbu harorat optimal ekanligini ko'rsatadi. Past (20 °C) va yuqori (40 °C) haroratlarda biomassa kamayishi hujayra metabolizmining sekinlashuvi hamda fermentativ tizimlarning harorat stressiga sezgirliigi bilan izohlanishi mumkin.

3-jadval. Endofit achitqilarning NaCl va pH ning turli miqdorlarida o'sishi.

	Izolyatlar	NaCl ning turli foizda o'sish ko'rsatgichlari					pH ning turli miqdorida o'sish ko'rsatgichi		
		Control 0%	5%	10%	15%	20%	pH3	pH7	pH9
1	021	+++	+++	++	++	+	-	+++	+++
2	022	+++	+++	++	++	-	-	+++	++
3	023	+++	+++	++	++	-	-	+++	++
4	026	+++	+++	++	++	-	-	+++	+
5	027	+++	+++	++	++	-	-	+++	+
6	028	+++	+++	++	++	-	-	+++	+++
7	02	+++	+++	++	++	-	-	+++	++
8	03	+++	+++	++	++	-	-	+++	+

Izoh: “+++” yaxshi o'sgan, “++” o'rta miqdorda o'sgan, “+” o'sish alomatlari bor, “-” o'smagan.

3-jadvalda endofit achitqi izolyatlarining NaCl ning turli konsentratsiyalari va pH qiymatlarida o'sish ko'rsatkichlari sifat ko'rsatkichlariga qarab baholandi. NaCl konsentratsiyasi 10% va 15% ga oshirilganda barcha izolyatlarda o'sish darajasi o'rta (+) holatga tushdi. 20% NaCl sharoitida esa keskin farqlar kuzatildi: 021- izolyatda faqat o'sish alomatlari (+) qayd etilgan bo'lsa, qolgan izolyatlarda (022, 023, 026, 027, 028, 02 va 03) o'sish to'liq to'xtadi (-). Bu natijalar 021-shtamning yuqori tuzlilikka nisbatan nisbiy bardoshlilikini ko'rsatadi pH sharoitlari bo'yicha tahlil shuni ko'rsatdiki, pH 3 da barcha izolyatlarda o'sish ko'rsatmagan (-), bu kuchli kislotali muhitning endofit achitqilar uchun noqulay ekanligini bildiradi[7].

Ushbu tadqiqot natijalari endofit achitqi izolyatlarining ekologik stress omillariga, xususan, tuzlilik va pH o'zgarishlariga sezilarli darajada bog'liq javob berishini ko'rsatdi. Endofit achitqi izolyatlarining o'sishi NaCl konsentratsiyasi va pH darajasiga sezilarli darajada bog'liq bo'lib, 5–15% NaCl va pH 7 sharoitlari optimal ekanligi aniqlandi. 021 va 028 izolyatlarining yuqori tuzlilik va ishqoriy muhitga nisbatan nisbiy bardoshlilikini ularni stressga chidamli va biotexnologik jihatdan istiqbolli shtammlar sifatida ko'rsatadi[8].

Xulosa va takliflar. Ushbu tadqiqot natijalari endofit achitqi shtammlarining ekologik omillarga nisbatan ma'lum darajadagi moslashuvchanlikka ega ekanligini ko'rsatdi. Harorat bo'yicha 28 °C optimal sharoit sifatida aniqlandi, past va yuqori haroratlar esa biomassa hosil bo'lishini chekladi. Tuzlilik va pH bo'yicha olib borilgan tajribalar ayrim shtammlarning yuqori osmotik bosim va ishqoriy muhitga bardosh bera olishini tasdiqladi. Ayniqsa, 021 va 028 izolyatlarining bir nechta stress omillariga nisbatan barqarorligi ularni biotexnologik jarayonlarda qo'llash uchun istiqbolli shtammlar sifatida ko'rsatadi. Olingan natijalar endofit achitqilarni ekologik va amaliy jihatdan chuqurroq o'rganish zarurligini ko'rsatadi.

ADABIYOTLAR

1. Solis MJL, Yurkov A, dela Cruz TE, Unterseher MJM (2015) Leafinhabiting endophytic yeasts are abundant but unevenly distributed in three Ficus species from botanical garden greenhouses in Germany. *Mycol Prog* 14:1019. <https://doi.org/10.1007/s11557-014-1019-6>
2. Cui Y, Jiang X, Qi F, Liu Y (2012) Isolation and primary identification of endophytic yeast from wine grape [J] *China Brewing* 9:82–84.
3. Glushakova A, Kachalkin A (2017b) Endophytic yeasts in Malus domestica and Pyrus communis fruits under anthropogenic impact. *Microbiology* 86:128–135. <https://doi.org/10.1134/S0026261716060102>
4. Wachowska U, Irzykowski W, Jędrzycka M (2018) Agrochemicals: Effect on genetic resistance in yeasts colonizing winter wheat kernels. *Ecotox Environ Safe* 162:77–84. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.042>
5. Jin, Y., Zhang, L., & Li, Q. (2019). High-temperature fermentation characteristics of *Pichia kudriavzevii* and its applications in biofuel production. *Bioresource Technology*, 275, 25-33.
6. Nguyen, T. H., & Nguyen, D. L. (2020). Bioconversion of agricultural residues into biofuels using *Pichia kudriavzevii*. *Renewable Energy*, 147, 1907-1915.
7. Chen, R., Zhang, H., & Li, J. (2023). Genetic modification of *Pichia kudriavzevii* to enhance thermotolerance for industrial fermentation processes. *Fungal Biology Biotechnology*, 10(1), 1-10. 6.
8. Yang, L., Wang, J., & Li, X. (2024). Investigation of the biochemical properties of *Pichia kluyveri* for improved fermentation efficiency. *Biotechnology Advances*, 45, 107675.
9. Ling, L., Tu, Y., Ma, W., Feng, S., Yang, C., Zhao, Y., ... & Zhang, J. (2020). A potentially important resource: endophytic yeasts. *World journal of microbiology and biotechnology*, 36(8), 110.