



Gulsanam MARDONOVA,
O'zbekiston Milliy universiteti katta o'qituvchisi, PhD
E-mail: gulsanam.uktamovna@gmail.com

O'zMU professori A.Vahabov taqrizi asosida

**QIZILMIYA - GLYCYRRHIZA GLABRA LINN O'SIMLIGI ILDIZIDAN AJRATILGAN ENDOFIT
BAKTERIYALARNING PATOGEN ZAMBURUG'LARGA QARSHI ANTAGONISTIK XUSUSIYATINI
O'RGANISH**

Аннотация

Endofit mikroorganizmlar o'simlikning ichki to'qimalarida simbiotik tarzda yashovchi, o'simlikning himoya tizimini mustahkamlovchi va biokimyoviy moddalarning sintezi orqali biotik stresslarga qarshi tabiiy qarshilikni kuchaytiruvchi mikrobiologik guruh sifatida alohida ahamiyatga ega. Ushbu tadqiqotda *Glycyrrhiza glabra* L. (qizilmiya) o'simligi ildizidan ajratib olingan endofit bakteriyalarning patogen zamburug'larga nisbatan antagonistik faolligi o'rganildi. Natijalar ayrim endofit bakteriyalar tomonidan sezilarli darajada o'sish zonasi ingibirlashini, bu esa ularning antifungal metabolitlar ishlab chiqarish qobiliyatiga ega ekanligini ko'rsatdi. Olingan ma'lumotlar qizilmiya ildizida yashovchi endofit bakteriyalar biokontrol agentlari sifatida qo'llanishi mumkinligini, ularning qishloq xo'jaligi va farmatsevtika sohasida yangi biologik fungitsidlarni ishlab chiqishda istiqbolli manba ekanini tasdiqlaydi.

Kalit so'zlar: endofit, antagonist, fitopatogen, HCN, gidrolitik fermentlar, IAA, sideroforalar, ACC- deaminaza.

**ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТСКИХ СВОЙСТВ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОРНЕЙ
ГРИБКА GLYCYRRHIZA GLABRA LINN, ПРОТИВ ПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ**

Аннотация

Эндофитные микроорганизмы имеют особое значение как группа микроорганизмов, живущих в симбиозе во внутренних тканях растений, укрепляющих защитную систему растений и повышающих естественную устойчивость к биотическим стрессам за счет синтеза биохимических веществ. В данном исследовании изучалась антагонистическая активность эндофитных бактерий, выделенных из корней *Glycyrrhiza glabra* L. (солодки), против патогенных грибов. Результаты показали, что некоторые эндофитные бактерии значительно ингибируют зону роста, что указывает на их способность продуцировать противогрибковые метаболиты. Полученные данные подтверждают, что эндофитные бактерии, обитающие в корнях солодки, могут быть использованы в качестве агентов биологического контроля и являются перспективным источником для разработки новых биологических фунгицидов в сельском хозяйстве и фармацевтике.

Ключевые слова: эндофит, антагонист, фитопатоген, HCN, гидролитические ферменты, ИУК, сидерофоры, АЦЦ-деаминаза.

**STUDY OF ANTAGONISTIC PROPERTIES OF ENDOPHYTIC BACTERIA ISOLATED FROM THE ROOTS OF
THE WHISPER - GLYCYRRHIZA GLABRA LINN. AGAINST PATHOGENIC FUNGI**

Annotation

Endophytic microorganisms are of particular importance as a microbial group that lives symbiotically in the internal tissues of plants, strengthens the plant's defense system and enhances natural resistance to biotic stresses through the synthesis of biochemical substances. In this study, the antagonistic activity of endophytic bacteria isolated from the roots of *Glycyrrhiza glabra* L. (licorice) against pathogenic fungi was studied. The results showed that some endophytic bacteria significantly inhibit the growth zone, which indicates their ability to produce antifungal metabolites. The obtained data confirm that endophytic bacteria living in licorice roots can be used as biocontrol agents and are a promising source for the development of new biological fungicides in agriculture and pharmaceuticals.

Keywords: endophyte, antagonist, phytopathogen, HCN, hydrolytic enzymes, IAA, siderophores, ACC-deaminase.

Tadqiqotning dolzarbligi. O'simlik endofitlari - bu o'simlik to'qimalarida yashab, ularga zarar yetkazmaydigan va aksincha, o'simlikning himoya mexanizmlarini faollashtiruvchi mikroorganizmlar guruhidir. So'nggi yillarda endofit bakteriyalarning antifungal, antibakterial va o'sishni rag'batlantiruvchi xususiyatlari qishloq xo'jaligi, biotexnologiya va farmatsevtika sohaslarida katta ilmiy qiziqish uyg'otmoqda. *Glycyrrhiza glabra* L. (qizilmiya) - biologik faol moddalar, shu jumladan saponinlar, flavonoidlar, glitsirizin va boshqa ikkilamchi metabolitlarga boy o'simlik bo'lib, uning endofit mikrobiomi biologik faollik manbai sifatida alohida e'tiborga ega.

Patogen zamburug'lar, xususan *Fusarium* avlodi vakillari qishloq xo'jaligi ekinlariga, o'simlik dorivor xomashyolariga hamda inson salomatligiga jiddiy xavf tug'diradi. Kimyoviy fungitsidlar keng qo'llanilishi ekologik muammolar, rezistent shtammlarning shakllanishi va toksiklik kabi muammolarni keltirib chiqarmoqda. Shu sababli biologik nazorat vositalarini ishlab chiqish dolzarb vazifalardan biridir. Endofit bakteriyalar tomonidan sintez qilinadigan antibiotiklar, sideroforlar, proteaza, lipaza, kitinaza kabi faol moddalarning zamburug'larga qarshi samarasi biologik fungitsidlar uchun istiqbolli manba hisoblanadi.

Endofit mikroorganizmlar o'simlik o'sishi va rivojlanishi uchun ijobiy ta'sir ko'rsatadi. Bu foydali ta'sir bir qancha mexanizmlar asosida tushuntirish mumkin. Patogen zamburug'larga qarshi antogonizm xususiyati, HCN sintez qilishi, gidrolitik fermentlar faolligi, IAA sintez qilishi, sideroforlar hosil qilish xususiyati, ACC- deaminaza sintez qilishi shular jumlasidandir [5].

Adabiyotlarda endofitlarning antifungal ta'siri bir nechta mexanizm orqali sodir bo'lishi ta'kidlanadi: (antibioz - volyatil va non-volyatil antibiotik metabolitlar ishlab chiqarish (lipopeptidlar, fenolakatsiyalar, poliketidlar) [1]; sideroforlar orqali temirni tortib olish va shu bilan patogenga o'sish uchun resurslar cheklash; ekstrasselulyar lytik fermentlar - kitinaza, glukanaza va proteazalar orqali zamburug' devorini buzish; raqobat - o'simlik to'qimasida joy va oziq moddalar uchun raqobat; o'simlikning tizimli himoyasini induksiya qilish (ISR - induced systemic resistance). Bu mexanizmlar birgalikda yoki alohida ko'rinishda antagonizmi yaratadi [2.3.4].

Endofit bakteriyalarni qaysi vakillari bionazorat aktivligiga ega ekanligini bilish va barcha xususiyatlarini o'rganish uchun pepton bulyonida (har biri 25 ml ozuqada) o'stirib olindi. Bu mikroorganizmlar o'sishi uchun termostatda 28 – 29 °C haroratda 5 - 7 kun saqlandi. Bir haftadan so'ng rang o'zgarib kolloniyalar hosil bo'lganini kuzatildi. Mikrobiologiya va biotexnologiya instituti kolleksiyasidan *Fusarium oxysporium*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium trititintum* va *Fusarium solani* patogen zamburug'lari ishlatildi [6].

Endofit bakteriya izolyatlari plastinka usuli yordamida yuqorida aytib o'tilgan zamburug'larga qarshi antagonistik faollik uchun *in vitro* usulda sinovdan o'tkazildi. Ushbu tadqiqot uchun kultural suyuqlikda metabolitlar konsentratsiyasini maksimal darajada oshirish uchun barcha bakteriyalarni pepton bulyonida 5 kun davomida 28 °C da o'stirib olindi. Petri idishlariga Chapek agar quyildi va bakterial suyuqlik quyish uchun 4 ta chuqurcha qilindi. Petri idishi o'rtasiga kichik zamburug' (*Fusarium oxysporium*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium trititintum* va *Fusarium solani*) o'sgan agarli bo'lak qo'yildi va idishlar 5 kun davomida 28°C haroratda inkubatsiyaga qo'yildi. Zamburug'lar va sinov bakteriyalari orasidagi ingibirlash zonasining kengligi o'lchandi [7].

Chapek ozuqa muhiti faqat zamburug'lar uchun optimum ozuqa muhit bo'lganligi sababli, ham zamburug', ham endofit bakteriya o'sadigan dual ozuqa muhitda ham tajribani takrorlab ko'rdik. Petri chashkalariga qalin qilib Dual ozuqa muhitini qo'yib olindi (yetarli darajada qattiq bo'lishi uchun maksimal darajada (1 l ga 30 gr agar) agar solindi). Zamburug'lar Dual ozuqa muhit (KB va PA aralashmasi) da o'rtacha haroratda 28 °C da 5 - 7 kun davomida o'stirildi. O'sgan zamburug'lar bakterial ilmoq yordamida Petri idishlarining (diametri 9 sm) markazlariga joylashtirildi. Keyin bakterial suspenziyalardan bakterial ilmoq bilan Petri idishlarning 4 tomoniga ekildi. Shu o'rinda nazorat variant ham tayyorlandi. Hech qanday bakteriya suspenziyalarisiz, Petri idishlari markaziga fitopatogen zamburug' namunasi qo'yildi. Hamma petri chashkalar 28 °C ga termostatga joylashtirildi. Tadqiqot kuzatib borildi. Zamburug'lar o'sishini ingibirlaydigan izolyatlar tanlandi.

Qizilmiya o'simligidan ajratilgan endofit bakteriyalarning o'simlikka foydali xususiyatlar

Paenibacillus polymyxa GU1, *Paenibacillus amylolyticus* GU5, *Bacillus cereus* GU14, *Enterobacter hormaechei* GU15 va *Pantoea agglomerans* GU18 bakteriya izolyatlari IAA sintez qilishi aniqlandi. 18 ta bakteriyadan 4 tasi sideroforlar ishlab chiqarishi kuzatildi. 3.2-jadvalda qizilmiyadan ajratilgan endofit bakteriyalarning o'simlik uchun foydali xususiyatlari haqida ma'lumotlar keltirilgan.

8 izolyat *Paenibacillus polymyxa* GU1, *Achromobacter piechaudii* GU2, *Paenibacillus amylolyticus* GU5, *P. azotoformans* GU7, *Enterobacter cloacae* GU11, *Bacillus cereus* GU14, *Enterobacter hormaechei* GU15 va *Pantoea agglomerans* GU18 ACC deaminaza sintez qilishi kuzatildi, hamda 9 shtammda vodorod sianidi (HCN) ishlab chiqarilishi kuzatilgan. Siderofora ishlab chiqaradigan shtammlar: *E. hormaechei* GU3, *A. xylosoxidans* GU6, *B. cereus* GU14, *P. agglomerans* GU18.

Shuningdek, shtammlar zamburug' hujayra qobig'ini yemiradigan fermentlarni (proteazalar, lipazalar, gluknaza va xitinaza) sintez qilishi aniqlandi. 8 ta bakteriya izolyatda kamida 2 tadan tekshirilayotgan ferment sintezlashi aniqlandi (3.2-jadval). Lipaza ishlab chiqaradigan shtammlar: *P. ananatis* GU4, *P. azotoformans* GU7, *E. ludwigii* GU8, *B. velezensis* GU9, *E. cloacae* GU11, *K. cowanii* GU12, *B. cereus* GU14, *E. hormaechei* GU15, *K. pneumoniae* GU17, *P. agglomerans* GU18 (1-rasm).



1-rasm. Lipaza faolligi - GU1, GU4, GU7, GU8, GU10, GU18 shtammlarida ko'rinishi

Glukanaza ishlab chiqaradigan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. amylolyticus* GU5, *A. xylosoxidans* GU6, *B. velezensis* GU9, *E. coli* GU10, *C. freundii* GU13, *B. cereus* GU14, *E. hormaechei* GU15, *P. agglomerans* GU18. Proteaza ishlab chiqaradigan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. amylolyticus* GU5, *A. xylosoxidans* GU6, *B. velezensis* GU9, *E. coli* GU10, *C. freundii* GU13, *B. cereus* GU14, *E. hormaechei* GU15, *P. agglomerans* GU18 (1-jadval).

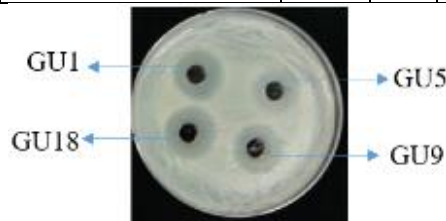
1-jadval

Qizilmiya bilan assotsiatsiyadagi endofit bakteriyalarning o'simlikka foydali xususiyatlari

Endofit bakteriyalar	HCN	Lipaza	Glukanaza	Proteaza	Xitinaza	IAA	ACC- deaminaza	Siderofora
<i>P. polymyxa</i> GU1	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>A. piechaudii</i> GU2	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>E. hormaechei</i> GU3	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>P. ananatis</i> GU4	-	+	-	-	+	-	-	-

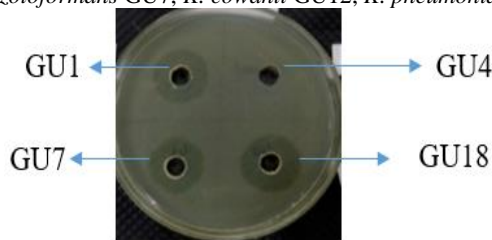
<i>P. amylolyticus</i> GU5	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>A. xylooxidans</i> GU6	+	-	+	+	+	+	-	+
<i>P. azotoformans</i> GU7	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>E. ludwigii</i> GU8	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>B. velezensis</i> GU9	+	+	+	+	-	-	-	-
<i>E. coli</i> GU10	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>E. cloacae</i> GU11	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>K. cowanii</i> GU12	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>C. freundii</i> GU13	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>B. cereus</i> GU14	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>E. hormaechei</i> GU15	-	+	+	+	-	-	+	+
<i>P. gaviniae</i> GU16	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> GU17	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>P. agglomerans</i> GU18	+	+	+	+	+	+	+	-

2-rasm. Proteaza faolligi- GU1, GU5, GU9, GU18 shtammlarida ko'rinishi



Xitinaza ishlab chiqaradigan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *E. hormaechei* GU3, *P. ananatis* GU4, *P. ananatis* GU5, *A. xylooxidans* GU6, *P. azotoformans* GU7, *K. cowanii* GU12, *K. pneumoniae* GU17, *P. agglomerans* GU18 (3-rasm).

3-rasm. Xitinaza faolligi- GU1, GU4, GU7, GU18 shtammlarida ko'rinishi



Auksin ishlab chiqaradigan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. amylolyticus* GU5, *A. xylooxidans* GU6, *P. azotoformans* GU7, *B. cereus* GU14, *P. agglomerans* GU18.

Endofit bakteriya izolyatlarning antifungal faolligi beshta fitopatogen zamburug'lar: *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum* va *F. tritici-tum* ga qarshi aniqlandi (2-jadval).

2-jadval




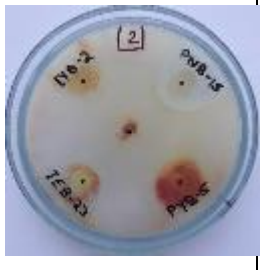
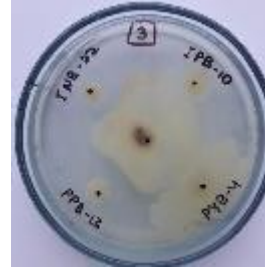
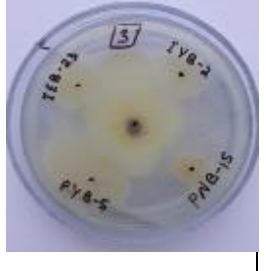

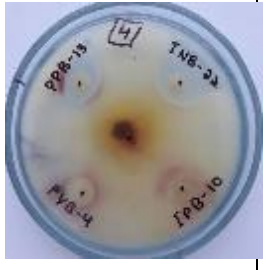
Qizilmiya ildizidan ajratilgan endofit bakteriyalarning fitopatogen zamburug'larga qarshi antogonizmi xususiyati

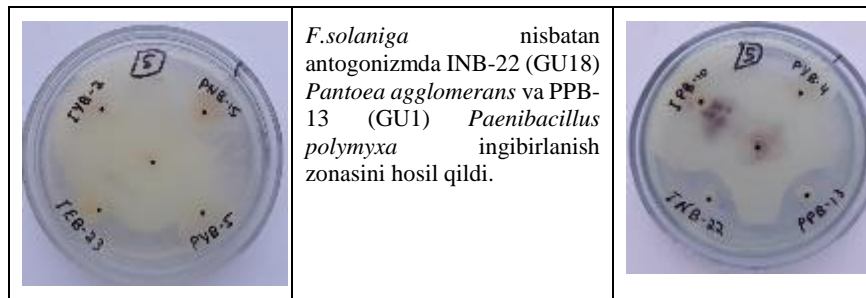
Endofit bakteriyalar	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. tritici-tum</i>	<i>F. graminearum</i>
<i>P. polymyxa</i> GU1	+	+	+	+	+
<i>A. piechaudii</i> GU2	-	-	-	-	-
<i>E. hormaechei</i> GU3	-	-	-	-	-
<i>P. ananatis</i> GU4	-	-	-	-	-
<i>P. amylolyticus</i> GU5	-	-	-	-	-
<i>A. xylooxidans</i> GU6	-	-	-	-	-
<i>P. azotoformans</i> GU7	-	+	+	+	+
<i>E. ludwigii</i> GU8	-	-	-	-	-
<i>B. velezensis</i> GU9	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i> GU10	-	-	-	+	-
<i>E. cloacae</i> GU11	-	-	-	-	-
<i>K. cowanii</i> GU12	-	-	-	-	-
<i>C. freundii</i> GU13	-	-	-	-	-
<i>B. cereus</i> GU14	-	-	-	-	-
<i>E. hormaechei</i> GU15	+	-	+	+	+
<i>P. gaviniae</i> GU16	-	-	-	-	-
<i>K. pneumoniae</i> GU17	-	-	-	-	-
<i>P. agglomerans</i> GU18	+	+	+	+	+

Sinovdan o'tkazilgan barcha endofit bakteriyalar orasida *P. polymyxa* GU1, *P. azotoformans* GU7 va *P. agglomerans* GU18 izolyatlari sinovdan o'tgan beshta o'simlikda patogen qo'zg'atuvchi zamburug'iga (*F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum* va *F. triticeum*) qarshi kuchli ingibitlovchi ta'sir ko'rsatdi. Ma'lumki, ushbu fermentlarning, shuningdek HCN ning mikroorganizmlar tomonidan sekretiysi o'simlik patogenlarining ta'sirini to'xtatishga olib kelishi mumkin. Zamburug'larning hujayra devorini yemiradigan fermentlarni ishlab chiqaruvchi shtammlar (xitinaza, lipaza va proteaza) fitopatogen zamburug'larga qarshi antagonistik ta'sir ko'rsatadi, hamda o'simliklarni ular tomonidan kelib chiqqan kasalliklardan himoya qiladi (2-jadval).

Ajratilgan barcha endofitlar *F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. triticeum*, *F. culmorum* patogen zamburug'lariga antogonizmi tekshirildi. Natijalar jadvalda va rasmlarda keltirilgan. 1-jadvalda ko'rinib turibdiki, *F. oxysporum* fitopatogen zamburug'ini o'sishini ingibirlagan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *E. hormaechei* GU15, *P. agglomerans* GU18; *F. culmorum* fitopatogen zamburug'ini o'sishini ingibirlagan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. azotoformans* GU7, *P. agglomerans* GU18; *F. solani* fitopatogen zamburug'ini o'sishini ingibirlagan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. azotoformans* GU7, *E. hormaechei* GU15, *P. agglomerans* GU18; *F. triticeum* fitopatogen zamburug'ini o'sishini ingibirlagan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. azotoformans* GU7, *E. coli* GU10, *E. hormaechei* GU15, *P. agglomerans* GU18; *F. graminearum* fitopatogen zamburug'ini o'sishini ingibirlagan shtammlar: *P. polymyxa* GU1, *P. azotoformans* GU7, *E. hormaechei* GU15, *P. agglomerans* GU18.

4-rasmda endofit bakteriyalar zamburug'larni ingibirlash zonasini aks ettirilgan. GU1 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. triticeum*, *F. culmorum*)larni o'sishini ingibirladi. GU7 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. solani*, *F. graminearum*, *F. triticeum*)larni o'sishini ingibirladi.

	<i>F. oxysporum</i> ga nisbatan antogonizmda PPB-13 (GU1) <i>Paenibacillus polymyxa</i> qisman ingibirlanish zonasini hosil qildi.	
	<i>F. graminearum</i> ga nisbatan antogonizmda PPB-13 (GU1) <i>Paenibacillus polymyxa</i> , INB-22 (GU18) <i>Pantoea agglomerans</i> va PNB-15(GU7) <i>Pseudomonas azotoformans</i> ingibirlanish zonasini hosil qildi.	
	<i>F. triticeum</i> ga nisbatan PPB-13 (GU1) <i>Paenibacillus polymyxa</i> , INB-22 (GU18) <i>Pantoea agglomerans</i> , PNB-15 (GU7) <i>Pseudomonas azotoformans</i> ingibirlanish zonasini hosil qildi.	
	<i>F. culmorum</i> ga nisbatan antogonizmda IYB-2 (GU3) <i>E. hormaechei</i> , PNB-15 (GU7) <i>Pseudomonas azotoformans</i> , PPB-13 (GU1) <i>Paenibacillus polymyxa</i> va INB-22 (GU18) <i>Pantoea agglomerans</i> , ingibirlanish zonasini hosil qildi.	



4-rasm. Endofit bakteriyalar tomonida patogen zamburug'larni ingibirlanishi. 1. *Fusarium oxysporum* patogen zamburug'ni ingibirlanishi, 2. *Fusarium graminearum* patogen zamburug'ni ingibirlanishi, 3. *Fusarium triticinum* patogen zamburug'ni ingibirlanishi, 4. *Fusarium culmorum* patogen zamburug'ni ingibirlanishi, 5. *Fusarium solani* patogen zamburug'ni ingibirlanishi.

GU10 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. triticinum*)ni o'sishini ingibirladi. GU15 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. triticinum*)ni o'sishini ingibirladi.

Xulosa. Endofitlarning o'simlikka foydali xususiyatlari jumladan: antonizm faolligi, auksin, gidrolitik fermentlar sintezi, HCN, siderofor va ACC deaminase faolligi aniqlandi. Bir nechta bakteriyalar IAA sintezida faol va *P. polymyxa*, *P. agglomerans* va *P. azotoformans* antonizm faolligi yuqori ekanligini kuzatildi. GU1 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. graminearum*, *F. triticinum*, *F. culmorum*)larni, GU7 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. graminearum*, *F. triticinum*, *F. culmorum*)larni, GU18 shtammi bakteriyalar fitopatogen zamburug' (*F. solani*, *F. graminearum*, *F. triticinum*, *F. culmorum*)larni o'sishini ingibirladi. O'simlik o'sishini jadallashtiruvchi, fitopatogen zamburug'larni o'sishini ingibirlash xususiyatiga ega bo'lgan *P. polymyxa* GU1 va *P. azotoformans* GU7 bakteriyalari qizilmiya uchun biologik o'g'it yaratishda qo'llanish taklif etiladi.

ADABIYOTLAR

1. Dang H. et al., *Root-associated endophytic bacterial community composition in medicinal licorices* - BMC Microbiology, 2020. SpringerLink
2. Mohamad OAA et al., *Evaluation of the Antimicrobial Activity of Endophytic Strains from Glycyrrhiza uralensis* - Frontiers in Microbiology, 2018. Frontiers
3. Tshikhudo PP et al., *Sustainable Applications of Endophytic Bacteria and Their Metabolites* - MDPI Microorganisms, 2023. MDPI
4. Ali MA. et al., *A review on mechanisms and prospects of endophytic biocontrol* - ScienceDirect review, 2024.
5. Schwyn B, Neilands JB. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. // Anal Biochem. – 1987. –P. 45–46.
6. Ginolhac A., Jarrin C., Robe P., Perrière G., Vogel T. M., Glick, Bernard R. «Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world.» // Microbiological research 169.1 –2014. –P. 30-39.