



UO\*K: 579.64:852.9(575.1)

**Sevara ERGASHEVA,**  
Magistrant, O‘zbekiston Milliy universiteti  
E-mail: [esevara38@gmail.com](mailto:esevara38@gmail.com)

**Sitora SAMADIY,**  
Katta o‘qituvchi, PhD, O‘zbekiston Milliy universiteti  
E-mail: [sitorasamadiy@gmail.com](mailto:sitorasamadiy@gmail.com) ORCID: 0009-0005-8631-3191

**Bahora JALOLOVA,**  
O‘qituvchi, PhD, O‘zbekiston Milliy universiteti  
E-mail: [jalolovabakhora@gmail.com](mailto:jalolovabakhora@gmail.com) ORCID: 0009-0001-8346-7540

UzMU professori, b.f.d A.Vahobov taqrizi asosida

### GLYCINE MAX O‘SIMLIGIDAN ENDOFIT VA RIZOSFERA BAKTERIYALARNI AJRATIB OLISH

Annotatsiya

Mazkur ishdan maqsad, dukkardoshlar oilasiga mansub o‘simliklardan o‘simliklarning o‘shishi va rivojlanishi, hamda stress omillariga chidamliligini oshirish maqsadida muhim bo‘lgan foydali mikroorganizmlarni ajratib olish va qishloq xo‘jaligi ekinlariga biologik faol qo‘shimcha sifatida qo‘llashdan iborat.

Mikroorganizmlar tomonidan ishlab chiqarilgan fitogormonlar, dukkakli o‘simliklarning xo‘l massasining oshishi hamda ildiz hosil qilish sistemasining rivojlanishiga katta xissa qo‘shadi. Shu bilan birga tuproqning unumdorligi hamda bir qancha patogen zamburug‘larga nisbatan antagonist faollikni namayon qiladi.

**Kalit so‘zlar:** Fitogormon, endofit, *Glycine Max*, dukkak, rizosfera, oziq-ovqat

### ВЫДЕЛЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ И РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ РАСТЕНИЯ *GLYCINE MAX*

Аннотация

Целью данной работы является выделение из растений семейства бобовых полезных микроорганизмов, важных для роста и развития растений, а также для повышения устойчивости к стрессовым факторам, и применение их в качестве биологически активной добавки к сельскохозяйственным культурам.

Фитогормоны, вырабатываемые микроорганизмами, в значительной степени способствуют увеличению хлорофилловой массы бобовых, а также развитию системы корнеобразования. При этом проявляет антагонистическую активность в отношении плодородия почвы, а также ряда патогенных грибов.

**Ключевые слова:** фитогормон, эндофит, *Glycine Max*, бобы, ризосфера, пищевой продукт

### ISOLATION OF ENDOPHYTIC AND RHIZOSPHERIC BACTERIA FROM THE *GLYCINE MAX* PLANT

Annotation

The purpose of this work is to isolate beneficial microorganisms from plants of the legume family, which are important for plant growth and development, as well as for increasing resistance to stress factors, and to use them as a biologically active additive to agricultural crops.

Phytohormones produced by microorganisms significantly contribute to an increase in the fat mass of legumes, as well as the development of the root formation system. At the same time, it exhibits antagonistic activity against soil fertility, as well as a number of pathogenic fungi.

**Keywords:** phytohormone, endophyte, *Glycine Max*, beans, rhizosphere, food product

**Kirish.** Respublikamizda qishloq xo‘jaligi ekinlari orasida ikkilamchi maxsulot sifatida dukkakli o‘simliklarni yetishtirish hamda suv, yerdan oqilona foydalanish iqtisodiy samaradorlikka qaratilgan ustuvor yo‘nalishlardan biri hisoblanadi. Dukkardoshlar oilasiga mansub *Glycine max* o‘simligining butun jahon oziq ovqat sanoatida tutgan o‘rni beqiyos hisoblanadi. Foydali endofit va rizosfera mikroorganizmlar tomonidan indol sirka kislotasini ishlab chiqaradi hamda noorganik fosfat va kaliyni eritish qobiliyatiga ega.

**Adabiyotlar tahlili.** O‘simliklarning o‘shishi va rivojlanishini rag‘batlantiruvchi rizobakteriyalar (PGPR) - bu o‘simliklar rizosferasida mavjud bo‘lgan va o‘simliklarning o‘shishini rag‘batlantirish, kasalliklarning oldini olish hamda o‘simliklardagi hosildorlikni oshirish, foydali mikroorganizmlardan guruhidir (Gouda va boshqalar, 2018, Parray va boshqalar, 2016).

Yendofit mikroorganizmlar o‘simliklarning ishki to‘qimalari bilan uzviy aloqasi tufayli, mikroorganizmlar o‘zidan foydali biologik faol moddalarni sintez qilishi kabi qiziqishlariga yega bo‘lishdi, shunki biologik faol moddalar o‘simliklarning sifati va o‘shishini yaxshilash qobiliyatini isbotladilar [6]. Yendofit mikroorganizmlar turli o‘simliklar ishki to‘qimalarini, shu qatori ksilema tarmoqlarida koloniya hosil qiladi va o‘zi yashayotgan o‘simlikda yuqumli kasallik va shishlar keltirib shiqarmasdan, o‘simlik ishki qismida rivojlanadigan mikroorganizmlar kabi yashovchanligini davom etiradi [7].

Yendofitlarni obligat yoki fakultativ sifatida differensatsiyalash mumkin. Obligat yendofitlar-bu optimal sun‘iy muhitda o‘stirish ushuncha qulay bo‘lmagan va ularning o‘shishi ushuncha maxsus sharoitlarni talab qiladiganlar, fakultativ yendofitlar yesa tuproqda, optimal sun‘iy ozuqada, o‘simliklar yuzi qismida va hattoki bakterial suspenziya qo‘llanilganda, o‘simlik ishki qismida yashab qolishi adabiyotlarda ta‘riflangan [4]. Fakultativ yendofit bakteriyalarning ma‘qul tomoni shundaki, ular o‘simlik

dunyosining barchasida keng tarqalgan va ulardan sanoatda tabiiy biopreparatlar ishlab shiqarish imkoniyati borligidan foydalanish mumkin, sababi fakultativlarni obligatlarga qaraganda ajratib olish qulay bo'ladi [5].

Yuqorida tilga olingan, eng keng tarqalgan endofitlar bir pallali va ikki pallali o'simliklarning yovvoyi yoki madaniy ekinlaridan ajratilgan [10]. Mikroorganizm turiga qarab endofitlarni zamburug', aktinomitet va bakteriya kabi guruhlarga ajratish (klasifikatsiyalash) mumkin, bular ichida eng ko'p o'rganilganlari bakteriya, hamda zamburug'li endofitlardir [8]. Arxebakteriyalar va mikoplazmalar kabi boshqa mikroblar ham o'simliklarda endofit sifatida mavjud bo'lishi mumkin, ammo ularni endofit sifatida yashashligiga dalil yo'q [11]. Endofitlar va xo'jayin o'simliklar o'rtasidagi o'zaro ta'sirlar murakkab va ular o'z ichiga mutualizm va antagonizm kabi xususiyatlarni oladi. Assotsiatsiya ham majburiy, ham ixtiyoriy bo'lishi mumkin. Endofit aktinomitetlar odatda sog'lom o'simliklarning ichki to'qimalarida uchraydi [12]. O'simliklarning turli qismlaridan (poya, barg va ildiz) eng ko'p ajratilgan aktinomitetlar *Streptomyces* avlodi vakillaridir [9].

**RIZOSFERA** (yun. rhiza - ildiz va sfera) - o'simlik ildizlarini bevosita o'ralgan tuproq qatlami. Tuproqning boshqa qatlamlariga qaraganda fosfor o'zlashtirishi mikroorganizmlarga boy bo'lganidan, unda tuproq jarayonlari kuchliroq kechadi. Rizosfera mikroflorasining tarkibi tuproq tipi, ekologik sharoitlar va o'simlik yoshiga bog'liq. O'simliklar ildizlari orqali rizosferaga turli moddalar (qand, organik kislotalar, alkaloidlar, fitosidlar) chiqadi va bu ajratmalar rizosfera mikroorganizmlari uchun ozuqa bo'ladi, tuproq nordonligini o'zgartiradi va barqarorlashtiradi [14].

Rizosfera mikroorganizmlarini ajratish - o'simlik ildizlari bilan bevosita o'ralgan tuproq qatlamidan foydali bakteriya va zamburug'larni maxsus ozuqa muhitlariga ekish orqali ajratib olish jarayonidir. Bu jarayon tuproq namunalari olish, suyuqlashtirish, ozuqa muhitiga ekish (posev), inkubatsiya va sof kultura sifatida tozalash bosqichlarini o'z ichiga oladi, bu mikroorganizmlarning turiga va tuproq turi hamda o'simlik yoshiga bog'liq [15].

**Material va metodlar.** Tajribada o'simlik bo'lakchalari steril hovoncha yordamida ezib olinadi. Shundan so'ng, ular 2 daqiqa davomida steril suv solingan stakanlarga joylashtirildi. Novdalar va ildizlarning bo'laklari uzunasiga ingichka bo'laklarga kesilgan. Har bir namunadan 5 gr suyuqlik olib 9 ml steril suv solingan probirkalarda suyuqlashtirildi [1]. Barcha namunadan 100 mkl TSA da suyuqlashtirildi. Soya agarli muhit solingan petri likopchalariga 30 mkg miqdorda dozator yordamida tomizib olinib, gazon usulda ekiladi. Petri likopchalari termostatga 29°C da qoldiriladi. 94 soatdan so'ng hosil bo'lgan koloniyalar alohidalanadi va tozalash uchun TSA (tripton soyali agar) da shtrix shaklida qaytadan ekildi. Ekish jarayonida har bir alohida chiqqan koloniya bir obekt hisoblanib alohidalanib olinadi.

Mikroorganizmlar DNK sini aniqlash maqsadida kultural tozalangan va mikroskopiya usulida dastlabki tekshirilgan. Bundan tashqari, tajribalarda o'simlikning yuza qatlami steril ekanligini ham passiv qilib tekshirib ko'rdik, TSA (tripton soyali agar) da 94 soat davomida 29 °C da asosiy ish jarayonida inkubatsiya qildik. Natijalar steril o'simliklarda koloniyalar yo'qligini ko'rsatdi, bu esa o'simlik sirti steril ekanligidan dalolat beradi.

O'simliklarda umumiy holatni normallashtirgan endofit skriningini o'tkazish uchun 94 soat mobaynida tanlab olingan muhitida Erlenmeyer kolbalarida ekildi va 4 sutka davomida 29°C da endofitlar konsentratsiyasi 108 KTB/ml ga yetguncha kuzatib turildi. Bodring urug'lari 70% etanolda 5 daqiqa mobaynida sterilizatsiya qilindi, steril suv bilan bir necha marta yuvildi va xona haroratida (28°C) 6 soat davomida ivitib qo'yiladi. Urug'lar bakteriyal suspensiyada 20 daqiqa davomida ivitish orqali, bakteriyalardan holi va steril (avtoklavlangan) tuproqli idishlarga o'tkazilgan. Tuproq oldindan 2 atm bosim ostida 1 soat davomida avtoklavlangan. Nazorat sifatida steril TSA (tripton soyali agar) ozuqa muhiti ishlatilgan. O'simlik tanasi va ildizlarning uzunligi 10 kuni mobaynida monitoring qilib tekshirildi. O'sishni jadallashtiruvchi eng yaxshi bakterial izolyatlar aniqlandi.

Ajratib olingan shtammlarimiz sinovdan *in vitro* usulda o'tkazildi, o'simliklarda ildiz chirishini keltirib chiqaruvchi maxsus tanlab olingan *Fusarium oxysporum* va *Fusarium solani* fitopatogen zamburug'lariga nisbatan qarshi ko'rsatadigan antagonistik faollik tajribalarda aniqlandi. Chapek muhitida yuqoridagi sabablarga ko'ra tanlab olingan fitopatogenlar yetishtirildi. Fitopatogen mikroorganizm shtammlari 28°C da petri likopchalarda 5-7 kun mobaynida termostatda inkubatsiya qilindi hamda namlik taminlangan holda o'stirildi. Zamburug' koloniyasi o'sgan Agarli disklar to'rtburchaklar shaklida kesilgan (yon tomoni 7-8 mm) va Petri idishining o'rtasiga (diametri 9sm) joylashtirilgan. Triptonik soya bulonining suyuq muhitida o'stirilgan bakteriyalar sinov stakanlariga o'tkazildi va ularning har biri 200 mkl. dan Petri idishining chetlari bo'yab Chapek muhitida oldindan qilingan teshiklarga quyildi. Zamburug'lar nazorat stakanlarini bakteriyalarsiz muhitda to'liq qoplamaguncha stakanlar 28 °C da 7 kun davomida inkubatsiya qilindi. Inkubatsiya kuning har sutkasida nazorat qilib boriladi, kuzatish natijalari maxsus belgi bilan belgilab chiqiladi. Antifungal faollik qayd etilgan va zamburug' o'sishdan to'xtagan, hamda bakteriyalar o'sishi orasidagi ingibitor zonasining kengligi o'lchab olingan.

Doimiy qo'llaniladigan klassik usullar yordamida mikroorganizm morfo-fiziologik, hamda biokimyoviy xususiyatlari ko'rib chiqildi.

Gram reaksiyasi ishqoriy test yordamida sinovdan o'tkazildi. Tekshirish uchun shtamming biomassasi bilan bitta bakterial ilmoq (15-18 soatlik kultura) da muhit biomassasi bilan TSA muhitida chashka petrida o'stirilgan koloniyadan olindi va 50% mkl suyuqligidan 3% KOH eritmasida o'stirildi. Agar lizis oxirida koloniya jelega o'xshash bo'lsa, unda bakterial shtamm Gram-manfiy bakteriyalar deb tasniflangan [2]. Kraxmalning parchalanishini kraxmalli agar muhitida aniqlandi: MPA (go'sht-peptonli agar) + 1% eritilgan kraxmal qo'shilgan edi [3; 185 b.]. Kultura o'sishi aniqlangandan so'ng, agarning ma'lum qismi bilan kulturani ustiga Lugol eritmasi to'ldirildi. Koloniya atrofida ko'k bo'yoqning yo'qligi va muhitning qolgan qismida ko'k bo'yoqning saqlanishi kraxmalning kultura bilan parchalanishini ko'rsatdi. Jelatinning suyuqlashtirishi MPJ (go'sht-pepton jelatin 25%) muhitida 30 kun davomida aniqlandi.

Rizosfera bakteriyalarini ajratish, o'simlik ildiziga yopishgan tuproq qatlamidan (rizosfera) foydali mikroorganizmlarni (PGPR) tanlab olish jarayonidir. Bu jarayon ildizlarni yuvish, suspensiya tayyorlash, qatorli suyuqlashtirish va ozuqa muhitiga masalan, LB (Lauri Bertoni) yoki TSA (tripton soyali agar) ekish orqali amalga oshiriladi, so'ngra shakllangan koloniyalar morfologik-kultural xususiyatlariga ko'ra tanlab olinadi.

**Rizosfera bakteriyalarini ajratishning asosiy bosqichlari.** Namuna olish: Tajribada o'simlik ildizi ehtiyotkorlik bilan tuproqdan chiqariladi so'ngra ortiqcha tuproq silkitib tashlanadi va ildiz yuzasida qolgan 2-5 mm qalinlikdagi tuproq (rizosfera) namunasi kanvert usulida olinadi.

Suspensiya tayyorlash: Olib kelingan namuna rizosfera tuprog'ı 1gr steril tayyorlangan probirkalarga 9ml dan steril fiziologik eritma yoki suvga solinib, yaxshilab aralashiriladi, 10dona probirkaga 1ml dan olib suyultirish orqali ( $10^{-1}$  suyultirish) namuna tayyorlanadi.

Qatorli suyultirish: Bakteriyalar konsentratsiyasini kamaytirish uchun  $10^{-2}$  dan  $10^{-6}$  gacha (yoki undan yuqori) suyultirish ketma-ketligi amalga oshiriladi.

Ekish: Suyultirilgan namunalar (masalan, 0.1 ml) agarli optimal ozuqa muhitiga (LB, TSA, yoki maxsus tanlanma muhitlar) shpatel yordamida gazon usulida yoyib ekiladi.

Inkubatsiya va tanlash: Ekilgan idishlar  $25-30^{\circ}\text{C}$  da 24-72 soat davomida inkubatsiya qilinadi. Shakllangan turli xil bakteriya koloniyalari ajratib olinadi va toza kultura hosil qilinadi.

Rizosfera bakteriyasining ahamiyati: bu bakteriyalar o'simliklar uchun ozuqa moddalarini (azot, fosfor) o'zlashtiriladigan shaklga o'tkazadi, fitogormonlar ishlab chiqaradi va ildiz kasalliklarini keltirib chiqaruvchi patogenlarni kamaytiradi.

Asosiy Ajratiladigan Mikroorganizmlar:

- Bakteriyalar: Azotfiksatorlar, fosfatmobilizatorlar.
- Zamburug'lar: Mikoriza hosil qiluvchilar, fitopatogenlarga qarshi antagonistlar.
- Aktinobakteriyalar: Streptomitselar

Rizosfera mikroob tarkibi o'simlik ildizidan ajraladigan organik moddalar (qandlar, kislotalar) hisobiga tuproqning boshqa qatlamlariga qaraganda ancha boy bo'ladi.

**Xulosa.** Dunyoda aholi sonining soat sayin ko'payib borayotganligi sababli, qishloq xo'jaligi klasterlari va fermerlar uyushmasini qo'llab-quvvatlash zarurati tug'uldi, hamda dunyo aholisini sifatli oziq ovqat maxsulotlari bilan ta'minlash muammosi ortdi. Biolamning simbioz yashashiga asoslangan ilmiy tadqiqot ishlari meva sabzavot yetishtirishda samarali usul hisoblandi. Ammo, endofit mikroorganizmlar asosidagi bioo'g'itlarni tavsiya etishdan oldin laboratoriya reglamentida bir qancha o'simlik urug'lariga, urug' unuvchanligi va hosildorligiga ta'siri tahlil qilish, endofit bakteriyalar tomonidan sintez qilinadigan ikkilamchi metabolitlar, ularni o'simliklarning umumiy holatiga ijobiy ta'sirini baxolash orqali tavsiya etiladi. Ushbu asosiy savollarga faqat tizimli biologiyaning boshqa usullari bilan bir qatorda metagenomika kabi usullar orqali olingan ma'lumotlar bilan javob berish mumkin.

O'simliklardan ajratib olingan rizosfera va endofit bakteriyalarning turlarini oshishi meva, hamda sabzavotchilik sohalarning biofertilizatorlar, stress omillaridan saqlanish, bionazoratni shakillantirishda ahamiyatli hisoblanadi. Turli hil mikroorganizmlarni mukammal tarzda o'rganish biotexnologiyaning yangi yutuqlariga sabab bo'ladi. Fanni mikrobiologiya va o'simlikshunoslik bilan birga bog'liq holda o'rganish, o'simliklardagi turli kasalliklarni keltirib chiqaruvchi yoki o'simliklar bilan bog'liq bo'lgan inson salomatligiga xavf tug'diradigan patogenlarining ta'siridan saqlanishda muhim omil hisoblanadi.

Foydali mikroorganizmlar haqida muhim va dolzarb ma'lumotlarni jamlash, ilmiy o'rganish, fundamental tadqiqotlar qilish, o'simlik mikroflorasini o'rganishni taqozo etadi va bakteriyalarnig rizosfera, hamda endofit koloniyalarini ko'paytirish o'simlik umumiy holatini normallashtirishga olib keladi va turli stress omillariga chidamliligini oshiradi.

#### ADABIYOTLAR

1. Kandel S, Joubert PM, Doty SL. Bacterial Endophyte Colonization and Distribution within Plants. *Microorganisms*. -2017. P. 77 – 83
2. Gilardi G. Cultural and biochemical aspects for identification of glucosnonfermenting Gram-negative rods//Nonfermentative Gram-negative rods. – New York; Basel: Marcel Dekker Inc. -1985. 16:. P. 17 – 84
3. Cappucino J.G., Scherman N. *Microbiology a Laboratory manual*. – USA: Benjamin Communos publisher -2001. – P. 185
4. Christina A, Christopher V., Bhore SJ. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: an overview. *Pharmacogn. Rev.* -2013. P. 11 - 16.
5. Conn VM, Franco CM. Analysis of the Endophytic Actinobacterial Population in the Roots of Wheat (*Triticum aestivum* L.) by Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism and Sequencing of 16S rRNA Clones. *Appl Environ Microbiol* 3:. -2004. P. 1787 - 1794.
6. Eevers N, Gielen M, Sánchez-López A, Jaspers S, White JC, et al. Optimization of isolation and cultivation of bacterial endophytes through addition of plant extract to nutrient media. *Microbial Biotechnology*. -2015. 4:. P. 707 - 715.
7. Gupta RM, Kale PS, Rathi ML, Jadhav NN. Isolation, characterization and identification of endophytic bacteria by 16S rRNA partial sequencing technique from roots and leaves of *Prosopis cineraria* plant. *Asian J Plant Sci Res.* -2012. 6:. P. 36 - 43.
8. Joseph B, Priya RM. Bioactive compounds from endophytes and their potential in pharmaceutical effect: A review. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. -2011. P. 291 - 309.
9. Matsumoto A, Takahashi Y. Endophytic actinomycetes: promising source of novel bioactive compounds. *J antibiotics*. - 2017. P. 514 - 519.
10. Pundir RK, Rana S, Kaur S, Kashyap N, Jain P. Bioprospecting Potential of Endophytic Bacteria Isolated from Indigenous Plants of Ambala (Haryana, India) *Int J Pharm Sci Res.* -2014. P. 2309 - 2319.
11. Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. -2003. P. 491 - 502.
12. Tidke S, Ramakrishna D, Kiran S, Kosturkova G, Gokare RA. Current Understanding of Endophytes: Their Relevance, Importance, and Industrial Potentials. *IOSR J Biotechnol Biochem.* -2017. 3:. P. 43 - 59.
13. Waheeda K, Shyam KV. Formulation of Novel Surface Sterilization Method and Culture Media for the Isolation of Endophytic Actinomycetes from Medicinal Plants and its Antibacterial Activity. *J Plant Pathol Microbiol.* -2017. P. 339 - 345.
14. Gafforova Kh.F., Samadiy S.A., Jalolova B.Sh. Screening bacterial strains of *Bacillus* generation by protease activity// science and innovation international scientific journal volume 3 issue 10 october 2024 ISSN: 2181-3337 | scientists.uz. P. 125-128
15. Samadiy S.A Jalolova B. Abdusamatov S. To'raeva B. *Vitis vinifera* o'simligi tuproq mikroflorasini aniqlash usuli// O'zMU xabarlarlari Toshkent – 2024 3/1 Tabiiy fanlar turkumi 14-16 b.