



Farhod EGAMBERDIYEV,
O'zR FA Mikrobiologiya instituti tayanch doktoranti
E-mail: farhod.egamberdiyev93@gmail.com
Kseniya KONDRASHEVA,
O'zR FA Mikrobiologiya instituti katta ilmiy xodimi, PhD
Toshxon GULYAMOVA,
O'zR FA Mikrobiologiya instituti yetakchi ilmiy xodimi, professor

O'zMU professori Z.Jabbarov taqrizi asosida

BUXORO VILOYATI GALOFITLARI ENDOFIT ZAMBURUG'LARINING ANTIMIKROB XUSUSIYATLARI

Annotatsiya

Maqolada Buxoro viloyatining sho'rlangan tuproqlarida o'sadigan galofit o'simliklardan ajratilgan 35 ta endofit zamburug'larning mikroblarga qarshi xossalari o'rganildi. Endofitlarning qishloq xo'jaligi ekinlarining fitopatogenlariga nisbatan o'rtacha va yuqori antifungal faollik ko'rsatganligi ko'rsatildi. *Cladasporium*, *Alternaria* va *Fusarium* avlodiga mansub yettita endofit zamburug'larning kultural suyuqlik va biomassa ekstraktlarining eng yuqori antifungal faolligi bilan ajralib turdi.

Kalit so'zlar: Endofitlar, galofitlar, fitopatogenlar, mikroblarga qarshi faollik.

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ ГРИБОВ ГАЛОФИТОВ БУХАРСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация

В статье изучены антимикробные свойства 35 эндофитных грибов, выделенных из растений-галофитов, произрастающих на засоленных почвах Бухарской области. Показано, что эндофиты проявляли умеренную и высокую антифунгальную активность в отношении фитопатогенов сельскохозяйственных культур. Семь эндофитов, относящихся к родам *Cladasporium*, *Alternaria* и *Fusarium*, характеризуются наибольшей антифунгальной активностью, которая обнаруживалась при испытании культуральной жидкости и экстрактов из биомассы.

Ключевые слова: Эндофиты, галофиты, фитопатогены, антимикробная активность.

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF ENDOPHYTIC FUNGI HALOPHYTES OF THE BUKHARA REGION

Annotation

The article studied the antimicrobial properties of 35 endophytic fungi isolated from halophyte plants growing on saline soils of the Bukhara region. It was shown that endophytes exhibited moderate and high antifungal activity against phytopathogens of agricultural crops. Seven endophytes belonging to the genera *Cladasporium*, *Alternaria* and *Fusarium* are characterized by the highest antifungal activity, which was found when testing the culture fluid and biomass extracts.

Key words: Endophytes, halophytes, phytopathogens, antimicrobial activity.

Kirish. Endofitlar o'simliklarning ichki qismida yashaydigan organizmlar bo'lib, ular o'zlarining hayoti davomida o'simliklarning yaxshi o'sishi va rivojlanishiga, tashqi muhitning turli abiotik va biotik omillariga qarshi tasiriga chidamliligini oshirishda va tabiatga tez moslashishiga yordam beradi [1]. Endofit zamburug'lar tibbiyot va qishloq xo'jaligida katta salohiyatga ega bo'lgan bioaktiv tabiiy mahsulotlarning manbai hisoblanadi [2]. Bu galofit o'simliklarning to'qimalarida yashovchi barcha endofitlarga taalluqlidir, ular evolyutsiya jarayonida yuqori sho'rlanish darajasiga chidamli bo'lib, tuz konsentratsiyasi quruq qoldiqning 0,5% dan ortiq bo'lgan tuproqlarda ham yashay oladi [4].

Endofit mikroorganizmlarning muhim va qiziqarli xususiyatlaridan biri ma'lum patogenlarga qarshi antimikrob faollik ko'rsatish qobiliyatidir [5]. Endofitlar fitopatogenlar bilan raqobatlashgan holda ko'pincha o'simlikda kasallik keltirib chiqaradigan mikroorganizmlar sonini nazorat qilishda qatnashishi mumkin [6].

Tuzga chidamli o'simliklarning endofitlari mikroblarga qarshi xususiyatlarni sezilarli namoyon etishiga qaramay, adabiyotlarda bu haqida juda kam miqdorda cheklangan ma'lumotlar mavjud. Shu munosabat bilan ushbu ishning maqsadi galofitlardan ajratilgan endofit zamburug'larning mikroblarga qarshi faolligini baholashdan iboratdir.

Materiallar va metodlar. Tadqiqot obyekti, galofit o'simliklari (*Aeluropus littoralis*, *Climacoptera crassa*, *Halocnemum strobilaceum*, *Suaeda heterophylla*) to'qimalaridan ajratilgan tuzga chidamli 35 ta endofit zamburug'lari. Endofit zamburug'larni o'stirish suyuq Chapek-Dox muhitida 28°C-30°C haroratda 7 kun davomida 120 rpm tezlikda orbital tebratgichda amalga oshirildi. O'stirish muddati tugagandan so'ng, biomassa 15 daqiqa davomida 4000 rpm tezlikda sentrifuga qilish orqali kultural suyuqlikdan ajratildi.

Endofit zamburug'larining biomassasidan ikkilamchi metabolitlarning ekstraksiyasini olish o'zgartirilgan usul bo'yicha amalga oshirildi Hazalin va boshqalar [8]. Etilatsetat, etanol 96% va atsetonitril erituvchilar sifatida ishlatilgan. Erituvchilar aylanma bug'latgichda ohirgi quruq modda qolgunicha bug'latildi va 1 ml dimetil sulfoksid qo'shildi. Olingan ekstrakt boshlang'ich eritma sifatida ishlatildi va +4°C haroratda saqlanadi.

Kultural suyuqlik va ekstraktlarning antimikrob faolligi shartli patogenlar (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*), shuningdek, zamburug'lar (*Verticillium dahliae* 222, *Fusarium solani* 177, *Fusarium vasinfectum* 180, *Fusarium oxysporum* 177) - o'simlik patogenlari - Chapek-Dox muhitida (zamburug'lar uchun) va

Nutrient agarda (bakteriyalar uchun) chuqurchali diffuziya yo'li bilan o'rganildi [8]. O'simlik patogen kulturalari O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi Mikrobiologiya institutining mikroorganizmlar kolleksiyasidan olindi.

Antimikrob faollik patogen mikroorganizmning o'sishini ingibirlash zonasining diametrini o'lchash yo'li bilan baholandi: 14 mm gacha - faollik yo'q (patogenga qarshilik), 15-27 mm - o'rtacha faollik (patogenga o'rtacha sezgirlik), 27 mm dan ortiq - yuqori faollik (patogenga sezuvchanlik) [9].

Natijalar va muhokamalar. Xo'jayin o'simliklardan ajratilgan biofaol birikmalardan tashqari, endofit metabolitlari o'simlik metabolitlaridan sezilarli darajada farq qilishi mumkin va ularning qishloq xo'jaligi va tibbiyotda potensial qo'llanilishini aniqlaydigan o'ziga xos xususiyatlarga ega [10].

Tuproqning sho'rlanishi o'simliklarning fiziologik va morfologik jarayonlarini buzganligi va patogenlarga nisbatan sezgirlikni oshirishi sababli [11], ekinlarda antifungal xususiyatga ega endofitlardan foydalanish, kimyoviy moddalarga qaraganda ekologik jihatdan qulayroq yondashuv bo'lishi mumkin.

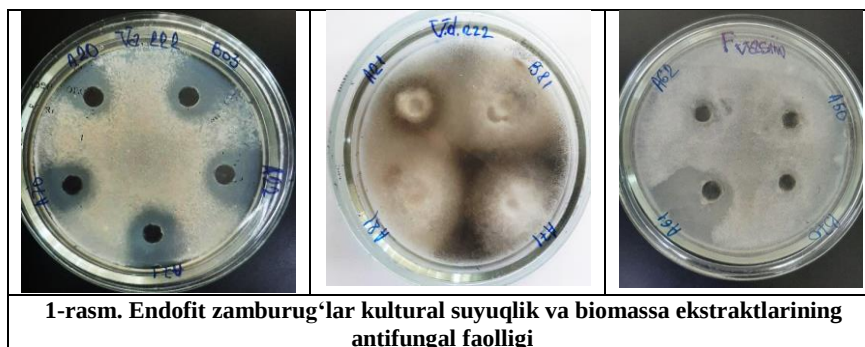
Fungitsidlik xossalari ko'pincha madaniy va yovvoyi o'simliklardan, shu jumladan galofitlardan ajratilgan endofitlarda ham uchraydi [12].

Shu sababli Buxoro viloyatining tuzga chidamli o'simliklaridan ajratib olingan galotolerant endofitlarning mikroblarga qarshi ta'sirini tahlil qildik.

Antimikrob faollikni o'rganish shuni ko'rsatdiki, birorta endofit zamburug'larning kultural suyuqligi va biomassa ekstraktlari shartli patogen bakteriyalarning o'sishiga sezilarli darajada to'sqinlik qilmadi. Shunday bo'lsada, *B.subtilis* ga nisbatan qisman faollik (ingibirlash zonasi 10 mm dan kam) kuzatildi. Taxmin qilish mumkinki, tabiiy sharoitda o'rganilayotgan zamburug'lar odamlar va hayvonlarning bakterial patogenlariga duch kelmaydi va ular bilan yashash joyi uchun raqobat qilmaydi.

Olingan ushbu natijalar asosida, galofit o'simliklarning bakteriotsid xususiyatlariga ega emasligi va antibakterial faollik ham simbiot zamburug'larga xos emasligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

Aksincha, endofitlar kultural suyuqligi va biomassa ekstraktlarining antifungal ta'sirini o'rganilganda zamburug' fitopatogenlarga nisbatan antigungal faollikga ega ekanligini ko'rsatdi (1-rasm).



1-rasm. Endofit zamburug'lar kultural suyuqlik va biomassa ekstraktlarining antifungal faolligi

Ko'pgina endofitlarda mavjud bo'lgan antifungal faollik ularning boshqa mikromitsetlar bilan yashash muhiti uchun raqobatlashiga imkon beruvchi mexanizmlardan biri ekanligi, shuningdek, xo'jayin o'simliklarini patogenlardan himoya qilish uchun xizmat qilishi o'rganilgan [15]. Gonsales-Menéndez va boshqalar tomonidan o'tkazilgan tadqiqotda. Andalusiya cho'l o'simliklaridan 349 ta endofitlarning sitotoksik va antifungal faolligi adsorbsion smola va smolasiz muhitda o'rganildi. Sinovdan o'tkazilgan 349 ta izolyatdan 126 tasi (36%) muhim biologik faollikni ko'rsatdi, shu jumladan 58 tasi zamburug'larga qarshi ajoyib xususiyatlarga ega ekanligi, shu bilan birga fungitsidlik faolligi bo'lgan bir qator ma'lum va yangi moddalar aniqlandi [16].

Bizning tajribalarda ham, 27 ta izolyatning kultural suyuqligi *Verticillium dahliae* 222 qo'zg'atuvchisiga qarshi faol, 17 ta endofit o'rtacha va 7 tasi yuqori qarshi faollikni ko'rsatdi (1-jadval). A61 izolyati *Fusarium vasinfectum* 180 ga, 2 ta kulturalar - *Aspergillus* A04 va *Penicillium* A13 *Verticillium dahliae* 222 va *Fusarium solani* 177 ga qarshi faol bo'lgan, ammo oxirgi patogenga qarshi qisman faollik kuzatildi. 2 Izolyatlarning hech biri *Fusarium oxysporum* 177 ning o'sishiga to'sqinlik qilmadi. Endofitlar orasida yuqori antifungal ta'sirga ega (ingibirlash zonasi 27 mm dan yuqori) *H.strobilaceum* galofit o'simligidan *Cladosporium* A51, *Alternaria* A61, *Alternaria* A62, *Alternaria* A63, *Fusarium* A71. *C. crassadan* *Alternaria* A81 va *A. litoralis* dan *Alternaria* B81 izolyatlar aniqlandi.

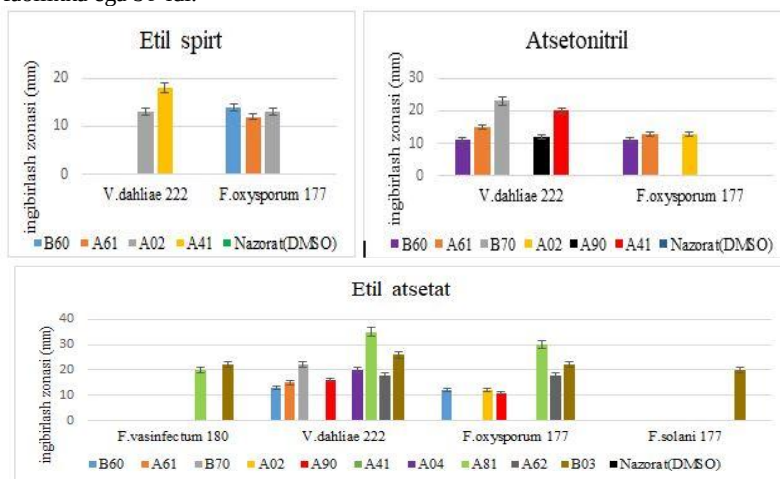
1-jadval.

Endofitlarning o'rta va yuqori antifungal faollik ma'lumotlari ko'rsatilgan

Izolyatlar va ularning faolligi (mm)	A01	A02	A04	A13	A20	A22	A61	A62	A63	A71	A81	A90	B02	B03	B30	B50	B81	A51
Fitopatogenlar																		
<i>V.dahliae</i> 222	17	20	18	18	15	20		35	30	30	35	20	20	22	17	20	30	28
<i>F.solani</i> 177			4	10														
<i>F.vasinfectum</i> 180							30											

Endofitlarning biomassa ekstraktlarining antifungal faolligi odatda kultural suyuqligiga nisbatan past, biroq, biomassalarning etil asetatdagi ekstraksiyalari esa sezilarli darajada fitopatogenlarga nisbatan aktivlik namoyon qildi. 35 ta izolyatlardan faqat 10 tasi o'simlik patogeni *Verticillium dahliae* 222 zamburug'ining o'sishini turli darajada to'xtatdi (2-rasm.). Faqat 7 ta izolyat fitopatogenlarga nisbatan o'rtacha va 1 ta izolyat yuqori faollik ko'rsatdi. Shu bilan birga, ba'zi endofitlarning hujayra ichidagi metabolitlari *Fusarium oxysporum* 177 patogenini o'sish va rivojlanishni ma'lum darajada ingibirlaganligi qayd etildi. Biroq ushbu xususiyat kultural suyuqligi uchun qayd etilmagan. Shu bilan birga, biomassa erituvchisi etil asetat bo'lgan 2 ta izolyat e'tiborga loyiq bo'ldi, ularning biomassasidan etil asetat ekstraktlari tayyorlangan: *A. litoralis* dan *Alternaria* A81 bir vaqtning o'zida 3 ta patogen zamburug'larga (*Fusarium vasinfectum*, *Verticillium dahliae* 222 va *Fusarium oxysporum* 177)

qarshi o'rtacha va yuqori faollik ko'rsatdi), *H.strobilaceum* dan *Aspergillus B03* barcha to'rtta o'rganilgan fitopatogenlarga qarshi stabil antifungal faollikka ega bo'ldi.



2-rasm. Endofit biomassasidan olingan ekstraktlarning antifungal faolligi.

Olingan ma'lumotlarni qiyosiy o'rganib shuni ta'kidlash kerakki, *Alternaria B70* izolyatining kultural suyuqligining antifungal faolligi yo'qligiga qaramasdan, bu endofitning ekstrakti *Verticillium dahliae* 222 ni o'sishini to'xtatdi. Kultural suyuqlik va 9 ta izolyatlarning ekstrakti fitopatogenlarning o'sishini cheklashga qodir, bu bir vaqtning o'zida fungitsid ta'sirga ega birikmalarning ekzogen va endogen tabiatini ko'rsatadi.

Shunday qilib, mikroblarga qarshi faollikni tahlil qilish natijasida O'zbekistonning tuzga chidamli o'simliklarida yashovchi endofit zamburug'lar shartli patogenlariga qarshi antibakterial faolligi bo'lmagan holda, o'simlik fitopatogenlarga nisbatan sezilarli antifungal faollik ko'rsatildi. Patogen zamburug'larning o'sishini to'xtatoladigan birikmalar hujayra tashqi muhitiga chiqariladi shuningdek endofit biomassasida to'planadi.

Yettita izolyat - *Cladosporium A51*, *Alternaria A61*, *Alternaria A62*, *Alternaria A63*, *Fusarium A71*, *Alternaria A81* va *Alternaria B81* - yuqori antifungal faollikni ko'rsatdi. Biroq, biologik nazorat sifatida dori yaratish uchun shtamlarni tanlash maqsadida keyingi tajribalarni rejalashtirayotganda, Christakis va boshqalar tomonidan olingan ma'lumotlarni hisobga olish tavsiya etiladi [15]. Olimlar tuzga chidamli endofitlarning o'sishini rag'batlantiruvchi faollik ko'rsatishi va patogen bakteriyalar va zamburug'larning in vitro va in-planta o'sishini ingibirlash qobiliyatini ko'rsatdi. Qizig'i shundaki, kuchli in vitro ta'sirga ega bo'lgan izolyatlar *Verticillium dahliae* 222 in-planta o'sishini kuchli ingibirladi. Ushbu ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, in vitro samaradorligidan qat'iy nazar olingan barcha izolyatlarning antifungal va/yoki antibakterial qobiliyatini o'simliklarning o'sishini ingibirlash xususiyatiga tekshirish kerak [15]. Shuningdek, tajribalar asosida olingan biopreparat qishloqxo'jaligi ekinlarini fitopatogenlardan himoya doirasida o'stirish uchun samarali vosita sifatida tavsiya etish mumkin.

ADABIYOTLAR

1. Aurelie Deveau., Gregory Bonito., Jessie Uehling., Mathieu Paoletti., Matthias Becker., Saskia Bindschedler., Stephane Hacquard., Vincent Herve., Jessy Labbe., Olga A. Lastovetsky., Sophie Mieszkina Larry J. Millet, Balazs Vajna, Pilar Junier, Paola Bonfante, Bastiaan P. Krom, Stefan Olsson, Jan Dirk van Elsas and Lukas Y. Wick, // Bacterial-fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. FEMS Microbiol. Rev., fuy008, 42, 2018, 335-352.
2. Li J-L, Sun X, Zheng Y, Lü P-P, Wang Y-L, Guo L-D. Diversity and community of culturable endophytic fungi from stems and roots of desert halophytes in northwest China // MycoKeys. – 2020. – №62. – C. 75-95. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.62.38923>.
3. Jalili B., Bagheri H., Azadi S., Soltani J. Identification and salt tolerance evaluation of endophyte fungi isolates from halophyte plants // International J. Envir. Sci. Technol. – 2020. – №17 – C. 3459-3466. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02626-y>.
4. Горышина Т.К. Экология растений: учеб. пособие. – М.: Высшая школа, 1979 – 369 с.
5. Strobel G.A. Endophytes as sources of bioactive products // Microbes Infect. – 2003. – №5(6) – C. 535-544. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00073-X).
6. Maksimov I.V, Abizgil'dina R.R, Pusenkova L.I. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review) // Appl. Biochem. Microbiol. – 201. – №47(4) – C. 333-345. <https://doi.org/10.1134/S0003683811040090>.
7. Гарипова С.Р., Гарифуллина Д.В., Маркова О.В., с соавт. Изучение бактериальных ассоциаций эндофитов клубеньков, способствующих увеличению продуктивности бобовых растений // Агрохимия. – 2010. – №11 – С. 50-58.
8. Hazalin N.A., Ramasamy K., Lim S.M., Wahab I.A., Cole A.Lj, Majeed A.A. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. BMC Complementary and alternative medicine. – 2009. – № 9:46. doi: 10.1186/1472-6882-9-46. PMID: 19930582; PMCID: PMC2785751.
9. Lorian V. Antibiotics in Laboratory Medicine, 3rd edn. Williams and Wilkins, Baltimore.J. Vandepitte, K. Engbaek, P. Piot, C.C. Heuck. – 1996.
10. Основные методы лабораторных исследований в бактериологии. ВОЗ, Женева, издание на русском языке «Медицина» – 1994. – 132 с.

11. Etesami H., and Beattie G.A. (2018). Mining halophytes for plant growth-promoting halotolerant bacteria to enhance the salinity tolerance of non-halophytic crops. *Front. Microbiol.* 9:148. doi: 10.3389/fmicb.2018.00148.
12. Сарварова Е.Р., Благова Д.К., Хайруллин Р.М., Максимов И.В. Выделение эндофитов из диких и культурных видов пшеницы. Сборник материалов конференции «Современные подходы и методы в защите растений, Екатеринбург», 12–14 ноября 2018 г, с. 66-68.
13. Chebotar V.K., Chizhevskaya E.P., Baganova M.E., Keleynikova O.V., Yuzikhin, O.S., Zaplatkin A.N., Khonina O.V., Kostitsin R.D., Lapenko N.G., Endophytes from Halotolerant Plants Aimed to Overcome Salinity and Draught. *Plants* 2022, 11, 2992. <https://doi.org/10.3390/plants11212992>.
14. Kondrasheva K., Egamberdiev F., Beshko N., Karimova F., Gulyamova T. Diversity and Halotolerance of Endophytic Fungi from Halophytes of Bukhara Region, Uzbekistan. *Acta Microbiologica Bulgarica*. Vol. 38/3 (2022), pp. 216-222.
15. Christakis C.A, Daskalogiannis G, Chatzaki A, Markakis E.A, Mermigka G, Sagia A, Rizzo G.F, Catara V, Lagkouvardos I, Studholme D.J and Sarris P.F (2021) Endophytic Bacterial Isolates From Halophytes Demonstrate Phytopathogen Biocontrol and Plant Growth Promotion Under High Salinity. *Front. Microbiol.* 12:681567. doi: 10.3389/fmicb.2021.68156
16. González-Menéndez V, Crespo G, de Pedro N, Diaz C, Martín J, Serrano R, Mackenzie TA, Justicia C, González-Tejero MR, Casares M, Vicente F, Reyes F, Tormo JR, Genilloud O. Fungal endophytes from arid areas of Andalusia: high potential sources for antifungal and antitumoral agents. *Sci Rep.* 2018 Jun 27;8(1):9729. doi: 10.1038/s41598-018-28192-5.