



UDK: 579.

**Hulkar KAMOLOVA,**

*O'zRFA Mikrobiologiya instituti tayanch doktoranti*

E-mail: kamolovahulkarO@gmail.com

**Go'zal QUTLIEVA,**

*O'zRFA Mikrobiologiya instituti katta ilmiy xodimi, b.f.n*

**Bahora TURAEVA,**

*O'zRFA Mikrobiologiya instituti katta ilmiy xodimi*

*O'zRFA ka.il.x., b.f.n O.Po'latova taqrizi asosida*

#### SELECTION OF OPTIMAL GROWTH CONDITIONS FOR PHYTOHORMONE-SYNTHESIZING LACTOBACTERIA

Annotation

The article presents studies on the selection of optimal temperature, specific metabolic products of microorganisms, and cultivation conditions for the accumulation of plant growth-stimulating substances, namely Gibberellic acid and Indole acetic acid, by strains of lactic acid bacteria isolated from plants.

**Key words:** Lactobacteria, lactic acid bacteria, phytohormone, ISK, Gibberellin, temperature, optimal conditions.

#### ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ РОСТА ДЛЯ ЛАКТОБАКТЕРИЙ СИНТЕЗИРУЮЩИХ ФИТОГОРМОНЫ

Аннотация

В статье представлены исследования по подбору оптимальной температуры, специфических продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и условий культивирования для накопления штаммами молочнокислых бактерий, выделенными из растений, веществ, стимулирующих рост растений, а именно гибберелловой и индолилуксусной кислот.

**Ключевые слова:** Лактобактерии, молочнокислые бактерии, фитогормон, ИСК, гиббереллин, температура, оптимальные условия.

#### FITOGORMON SINTEZLOVCHI LAKTOBAKTERIYALAR UCHUN OPTIMAL ŷSTIRISH SHAROITLARINI TANLASH

Annotatsiya

Maqolada o'simliklardan ajratib olingan sut achituvchi bakteriya shtammlarining o'simliklarning o'sishini rag'batlantiruvchi moddalar ya'ni Gibberellin kislota va Indolo Sirka kislota fitogormonlar to'plash uchun optimal haroratni tanlash, mikroorganizmlarning ma'lum metabolik mahsulotlari va yetishtirish sharoitlari bo'yicha tadqiqotlar keltirilgan.

**Kalit so'zlar:** Laktobakteriyalar, sut achituvchi bakteriyalar, fitogormon, ISK, Gibberellin, harorat, optimal sharoitlar.

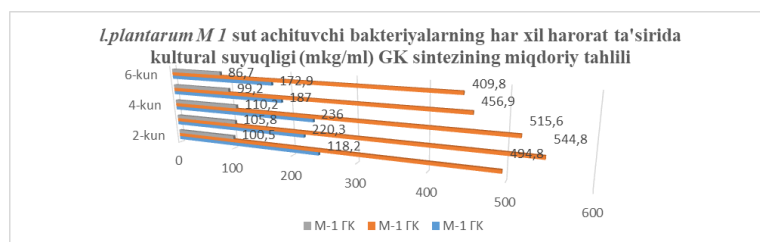
Kelgusi o'n yilliklarda kutilayotgan aholi sonining ko'payishi, chorvachilik mahsulotlariga bo'lgan talabning ortib borishi ko'proq miqdorda ozuqa mahsulotlarini ishlab chiqarishni talab qiladi. Sanoat rivojlangan mamlakatlarda oziq-ovqat sifati haqida umumiy tashvish va tuproq unumdorligini himoya qilish zarurati bugungi kunda butun dunyo qishloq xo'jaligi oldida turgan katta muammodir. Ba'zi tuproq bakteriyalari o'simliklarning o'sishini rag'batlantirish mexanizmlarini o'z ichiga oladi, ularga fitostimulyatsiya, ozuqa moddalarining mobilizatsiyasi, o'simlik patogenlarini bionazorat qilish va abiotik stresslardan himoya qilish kiradi. Shu sababli, o'simliklarni o'stirish jarayonida bioo'g'it sifatida qo'llaniladigan laktobakteriyalar ekologik toza usulni tashkil qiladi[1]. Ko'plab tadqiqotlar butun dunyo bo'ylab o'simlikni o'stiruvchi sut achituvchi bakteriyalar bioo'g'itlar sifatida qo'llanilishini ko'rsatadi, bu ekinlar hosildorligini oshirishga va tuproq unumdorligini yaxshilashga yordam beradi. Shunday qilib, bunday bakteriyalar qishloq va o'rmon xo'jaligini rivojlantirishga katta hissa qo'shishi mumkin[2,3]. Kimyoviy o'g'itlar va pestitsidlarni qo'llash atrof-muhit, ekologiya uchun bir qancha muammolarga sabab bo'lishi mumkin. Mikroorganizmlarni, ayniqsa bakteriyalarni o'simliklarning o'sishini rag'batlantiruvchi xususiyatlarga ega bo'lgan o'simlik probiotik bakteriyalarini qo'llash bu muammolarni bartaraf qilish uchun mumkin bo'lgan yechimlardan bo'lishi mumkin[4,5]. Optimal harorat barcha sut achituvchi bakteriyalarining asosiy xususiyati bo'lib, ularni bir-biridan ajratishga yordam beradi, chunki harorat bakteriyalarining ko'payishini nazorat qiladi. Harorat bakteriyalarining paydo bo'lish vaqtiga o'sish fazasiga qarab ta'sir qiladi, chunki har bir tur o'ziga xos optimal o'sish ko'rsatkichlariga ega [6]. Qishloq xo'jaligida va sanoatda sut achituvchi bakteriyalarga bo'lgan talabning ortib borishi bu bakteriyalarining yuqori zichligini kamroq o'stirish xarajatlari bilan olish zaruriyatini keltirib chiqaradi [6,7]. Sut achituvchi bakteriyalar B guruhidagi vitaminlarni va aminokislotalarni sintez qilish qobiliyatining mavjudligi tufayli yuqori ovqatlanish talablari tarkibiga kirishi bilan ajralib turadi [8]. Shuning uchun ularni ko'paytirishda fermentlanadigan uglevodlar, nuklein va aminokislotalar, B-kompleks vitaminlari, shuningdek, turli minerallarni o'z ichiga olgan boy muhitda o'stirish kerak [9]. Laktobakteriyalarni yetishtirish uchun laboratoriya miqyosida go'sht yoki xamirturush ekstrakti odatda azot manbai sifatida ishlatiladi, ammo, bu komponentlar odatda ishlatiladigan de Man, Rogosa va Sharpe muhitining (MRS) yuqori narxini yanada ko'taradi [10]. Arzon narxlardagi o'rta muqobil muhitlar asosan oziq-ovqat va qishloq xo'jaligining qo'shimcha mahsulotlari va chiqindilari orasidan tanlanadi [11].

Oziqa muhiti tarkibidan tashqari, sut achituvchi bakteriyalar o'sishiga harorat, pH, kislorod konsentratsiyasi yoki suv faolligi kabi turli xil sharoitlar ta'sir qilishi mumkin [12,13]. Laktobakteriyalar o'sishi uchun harorat 30-40 ° va pH 5,5-6,2 sharoitlari mos keladi. Laktobakteriyalar turi xilma-xildir va tegishli bakteriyalar 2 dan 53 °C gacha bo'lgan haroratda va pH 4,5 va 6,5 orasida o'zgarib turadi, ba'zi shtammlar esa undan ham past pH da o'sishi mumkin [14]. Ushbu sharhda biz o'simliklarning o'sishini yaxshilash va yanada barqaror qishloq xo'jaligini rivojlantirish uchun o'simlikdan ajratib olingan sut achituvchi bakteriyalarining o'sishi va ko'payishi uchun optimal harorat tanlab olinib, biopreparat olishda yangi tejamkor vositani ishlab chiqishga qaratilgan. o'rganilgan. Tadqiqot sut achituvchi bakteriyalar asosida o'simliklarni o'stiruvchi metabolitlar – fitogormonlar sintezini oshirish uchun optimal harorat aniqlab, biopreparat olishda yangi tejamkor vositani ishlab chiqishga qaratilgan.

**Material va metodlar.** Tadqiqot ob'ektlari probiotik xususiyatlarga ega, fitopatogen mikroorganizmlarga nisbatan faol bo'lgan *Lactobacillus plantarum* M1, *Pediococcus pentocaseus* A1 va *Enterococcus faecium* A2 shtammlari tanlab olindi. Turli o'simliklardan sof kulturalar ajratib olindi va morfologik tahlil qilinib, MALDI TOF aniqlagichda identifikatsiya qilindi. Gibberellin kislotasi miqdorini aniqlash. Ajratib olingan sut kislotali bakteriya shtammlari DeMannRogosaaSharpe (MRS) 37°C haroratda 200-220 marta aylanish/minut tezligidagi chayqatgichda 6 kun davomida o'stirildi. Tanlangan bakteriya shtammlari kultural suyuqligida o'stirishning ikkinchi kunidan boshlab 6 kun davomida GK miqdori aniqlandi. Tadqiqotda Muromtsev va Nestyuk usulidan foydalanildi. [15]. Buning uchun 15-20 ml hajmli probirkalarga filtrlangan kultural suyuqlikdan 1,0 ml miqdorda olinib, unga 1,0 ml Folin-Chiokalto reaktivi va HCl solindi va yaxshi aralashtirildi. Reaksiya aralashma 40 minut davomida qorong'i joyda qoldirildi. GK li namunalar och va to'q yashil tusga kirdi va tarkibidagi GK miqdori SPEKOL 1300 markali SF (spektrofotometr) da, 750 nM to'liq uzunligida qizil yorug'lik filtri orqali supernatantlarning optik zichligiga ko'ra o'lchandi. GK konsentratsiyasi toza holdagi standart GK (Sigma) bo'yicha kalibrlangan grafik yordamida aniqlandi [16].

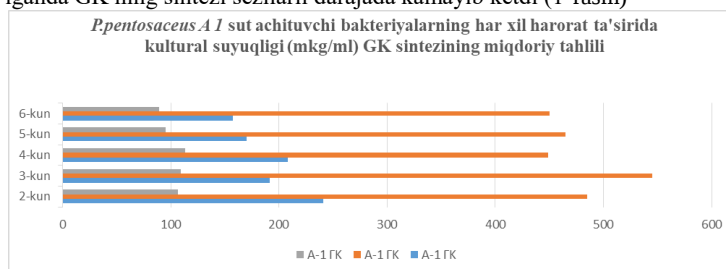
Indolil sirka kislotasi miqdorini aniqlash. Bakteriyalarni o'stirishning ikkinchi kunidan boshlab 6 kun davomida ISK miqdori o'lchab borildi. Buning uchun 15-20 ml hajmli probirkalarga filtrlangan 1,0 ml dan kultural suyuqlik olinib, unga 8,0 ml Salkovskiy reagenti (50 ml 35% li H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> va 1 ml FeCl<sub>3</sub> ning 0,5 M li eritmalari aralashmasi) solindi hamda yaxshi aralashtirildi. Shundan so'ng reaksiya aralashma 30 minutga qoldirildi. Namunalar qizil-pushti rangga kirgach tarkibidagi IUK miqdori SPEKOL 1300 markali SF (spektrofotometr)da, 450 nM to'liq uzunligida yashil yorug'lik filtri orqali supernatantlarning optik zichligiga ko'ra o'lchandi. Indolil sirka kislotasi konsentratsiyasi toza holdagi indolil sirka kislotasi (Sigma) bo'yicha kalibrlangan grafik yordamida aniqlandi.

**Olingan natijalar:** O'simlik namunalaridan ajratib olingan *L.plantarum* M1, *P.pentocaseus* A1 va *E.faecium* A2 sut achituvchi bakteriyalarining turli xil harorat ta'sirida fitogormon sintezi kuzatildi. Bunda 27 °C, 37° C va 45 °C haroratda pH 6.2 gibberellin va indolil sirka kislotasi sintezlanishi 2-chi sutkadan boshlandi 6-sutkagacha davom etdi. Eng yuqori sintez 2-3- 4 – sutkada kuzatildi.



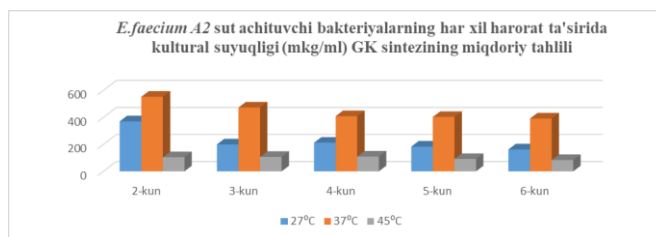
1-rasm

Ajratib olingan sut achituvchi bakteriya shtammlarida harorat 37 °C pH -6.2 bo'lganda GK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 2-3 kunlarida aniqlandi. *L.plantarum* M1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida o'stirishning 3-kunida 544,8 mkg/ml dan 6-kunida 409,8 mkg/ml gacha GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 27 °C pH - 6.2 bo'lganda GK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 3-kunida 220,3 mkg/ml, 4-kunida 236 mkg/ml GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 45 °C pH -6.2 bo'lganda GK ning sintezi sezilarli darajada kamayib ketdi (1-rasm)



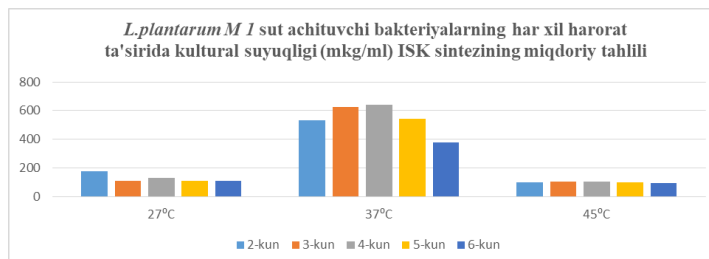
2-rasm

*P.pentocaseus* A1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida 37°C pH -6.2 bulganda GK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 3-kunida 545,3 mkg/ml dan 6-kunida 450,3 mkg/ml gacha GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 27 °C pH -6.2 bo'lganda GK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 2-kunida 241,3 mkg/ml, 3-kunida 252,4 mkg/ml GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 45 °C pH -6.2 bo'lganda GK ning sintezi 4-sutkada 113,1 mkg/ml bo'ldi va sezilarli darajada kamayib ketdi (2-rasm).



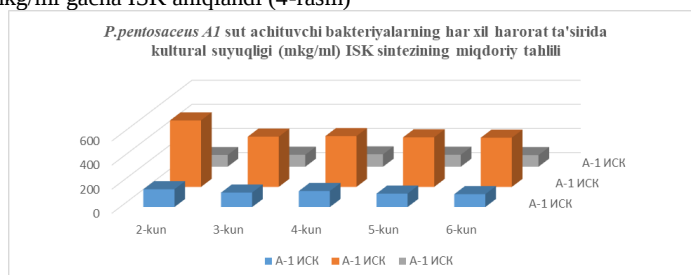
3-rasm

*E. faecium* A2 bakteriya shtammi kultural suyuqligida 37 °C pH -6.2 bulganda GK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 2-kunida 551,9 mkg/ml dan 6-kunida 390,9 mkg/ml gacha GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 27°C pH -6.2 bo'lganda GK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 2-kunida 241,3 mkg/ml, 3-kunida 252,4 mkg/ml GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 45 °C pH -6.2 bo'lganda GK ning sintezi 4-sutkada 113,1 mkg/ml miqdorda GK sintezi kuzatildi (3-rasm).



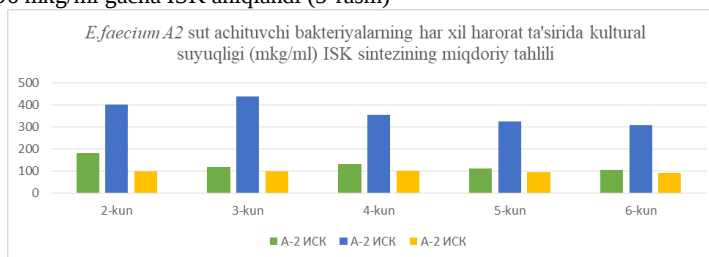
4-rasm

Tanlab olingan *L. plantarum* M1 sut achituvchi bakteriya shtammi harorat 27 °C pH -6.2 bo'lganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi ystirishning 2-6 kunida aniqlandi. *L. plantarum* M1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida ystirishning 2-kunida 174,2 mkg/ml dan 6-kunida 105 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi. *L. plantarum* M1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida harorat 37 °C pH -6.2 bo'lganda ystirishning 3-kunida 626,6 mkg/ml dan 6-kunida 377,2 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 45 °C pH -6.2 bo'lganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi ystirishning 2-6 kunida 99 mkg/ml dan 95 mkg/ml gacha ISK aniqlandi (4-rasm)



5-rasm

Tanlab olingan *P. pentosaceus* A1 sut achituvchi bakteriya shtammi harorat 27 °C pH -6.2 bo'lganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 2-6 kunida aniqlandi. *P. pentosaceus* A1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida o'stirishning 2-kunida 147,3 mkg/ml dan 6-kunida 107 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi. *P. pentosaceus* A1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida harorat 37 °C pH -6.2 bo'lganda o'stirishning 2-kunida 552 mkg/ml dan 6-kunida 408,7 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 45 °C pH -6.2 bo'lganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi ystirishning 4-kunida 102,8 mkg/ml dan 96 mkg/ml gacha ISK aniqlandi (5-rasm)



6-rasm

Tanlab olingan *E. faecium* A2 sut achituvchi bakteriya shtammi harorat 27 °C pH -6.2 bulganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 2-6 kunida aniqlandi. *E. faecium* A2 bakteriya shtammi kultural suyuqligida o'stirishning 2-kunida 180,8 mkg/ml dan 6-kunida 103 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi. *E. faecium* A2 bakteriya shtammi kultural suyuqligida harorat 37 °C pH -6.2 bo'lganda o'stirishning 3-kunida 436 mkg/ml dan 6-kunida 307,9 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 45 °C pH -6.2 bulganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi o'stirishning 4-kunida 101,5 mkg/ml dan 92 mkg/ml gacha ISK aniqlandi (6-rasm).

**Xulosa.** Barcha olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, ishlab chiqilgan ozuqa muhitida pH-6.2 va harorat 37°C bo'lganda, o'stirishning 3-kunida *L. plantarum* M1 shtammi 544,6 mkg/ml gacha *P. pentosaceus* A1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida 3-kunida 545,3 mkg/ml gacha va *E. faecium* A2 2-kunida 551,9 mkg/ml gacha GK hosil qilishi aniqlandi. Harorat 37°C pH -6.2 bo'lganda ISK ning eng yuqori miqdorda hosil bo'lishi *L. plantarum* M1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida o'stirishning 4-

kunida 643,2 mkg/ml gacha, *P.pentosaceus* A1 bakteriya shtammi kultural suyuqligida 2-kunida 552 mkg/ml gacha va *E.faecium* A2 3-kunida 436 mkg/ml gacha ISK hosil qilishi aniqlandi.

## ADABIYOTLAR

1. Plant probiotic bacteria: solutions to feed the world Esther Menendez<sup>1,\*</sup> and Paula Garcia-Fraile doi: 10.3934/microbiol.2017.3.page502-524
2. Khalid A, Arshad M, Shaharoona B, et al. Microbial Strategies for Crop Improvement. Berlin: Springer; 2009. Plant Growth Promoting Rhizobacteria and Sustainable Agriculture; pp. 133–160. [Google Scholar]
3. Vejan P, Abdullah R, Khadiran T, et al. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability - a review. *Molecules*. 2016;21:573. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
4. Garcia-Fraile P, Carro L, Robledo M, et al. *Rhizobium* promotes non-legumes growth and quality in several production steps: towards a biofertilization of edible raw vegetables healthy for humans. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038122>;7:e38122. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
5. Flores-Felix JD, Silva LR, Rivera LP, et al. Plants probiotics as a tool to produce highly functional fruits: the case of *Phyllobacterium* and vitamin C in strawberries. *PLoS One*. 2015;10:e0122281. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
6. Dong Z., Gu L., Zhang J., Wang M., Du G., Chen J., Li H. Optimisation for high cell density cultivation of *Lactobacillus salivarius* BBE 09-18 with response surface methodology. *Int. Dairy J.* 2014;34:230–236. doi: 10.1016/j.idairyj.2013.07.015. [CrossRef] [Google Scholar]
7. Manzoor A., Qazi J.I., Haq I.U., Mukhtar H., Rasool A. Significantly enhanced biomass production of a novel bio-therapeutic strain *Lactobacillus plantarum* (AS-14) by developing low cost media cultivation strategy. *J. Biol. Eng.* 2017;11:17. doi: 10.1186/s13036-017-0059-2. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
8. Kamalova H.F., Kutlieva G.J., Turaeva B.I. *Lactobacillus plantarum* amino acid and vitamin production properties of bacterial strain CKБ -368 ISSN 2521-3261 (Online)/ ISSN 2521-3253 (Print) <https://journalofresearch.eu/> 41
9. Wang T., Lu Y., Yan H., Li X., Wang X., Shan Y., Yi Y., Liu B., Zhou Y., Lü X. Fermentation optimization and kinetic model for high cell density culture of a probiotic microorganism: *Lactobacillus rhamnosus* LS-8. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2020;43:515–528. doi: 10.1007/s00449-019-02246-y. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
10. Hayek S.A., Gyawali R., Aljaloud S.O., Krastanov A., Ibrahim S.A. Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *J. Dairy Res.* 2019;86:490–520. doi: 10.1017/S002202991900075X. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
11. Budhwar S., Sethi K., Chakraborty M. Efficacy of germination and probiotic fermentation on underutilized cereal and millet grains. *Food Prod. Process. Nutr.* 2020;2:12. doi: 10.1186/s43014-020-00026-w. [CrossRef] [Google Scholar]
12. Fermentation pH and Temperature Influence the Cryotolerance of *Lactobacillus acidophilus* RD758 Y. Wang G. Corrieu C. Beal J. *Dairy Sci.* 88:21–29 American Dairy Science Association, 2005
13. Wouters, J. A., H. Frenkiel, W. M. de Vos, O. P. Kuipers, and T. Abee. 2001. Cold shock proteins of *Lactococcus lactis* MG1363 are involved in cryoprotection and in the production of cold-induced proteins. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:5171–517
14. Armando Hernández, Christer U. Larsson, Sebastian Håkansson Impact of the fermentation parameters pH and temperature on stress resilience of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 Published: 17 May 2019
15. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0789-2>
16. Муромцев Г.С., Нестюк М.Н. Количественное колориметрическое определение гибберелловой кислоты // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1960. – №2. – С. 119-122.
17. Bakhora Turaeva, Azam Soliev, Farkhod Eshboev, Lukhmon Kamolov, Nodira Azimova, Husniddin Karimov, Nigora Zukhriddinova and Khurshida Khamidova. The use of three fungal strains in producing of indole-3-acetic acid and gibberellic acid. // *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology* 21(35&36):32-43; 2020