



UDK: 579.64(615.281.8)

Sevinch RAHMONBERDIYEVA,
O'zMU Mikrobiologiya va virusologiya mutaxassisligi magistranti
No'monjon SULTANOV,
O'zMU Mikrobiologiya va virusologiya mutaxassisligi magistranti
E-mail: nomonjonsultanov4@gmail.com
Sulaymon MADAMINOV,
TIQXMMI milliy tadqiqot universiteti Biotexnologiya mutaxassisligi magistranti
Siroj ABDULLAYEV,
O'zMU Mikrobiologiya va virusologiya mutaxassisligi magistranti
Sohibjon ABDUSAMATOV,
O'zMU dotsenti
Dilfuza JABBOROVA,
Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodimi

O'zR FA Mikrobiologiya instituti yetakchi ilmiy xodimi, PhD D.Qosimov taqrizi asosida

ANOR (*PUNICA GRANATUM*) O'SIMLIGINING TURLI ORGANLARIDAN ENDOFIT BAKTERIYALAR AJRATIB OLISH, TAVSIFLASH VA ANTIFUNGAL FAOLLIGINI ANIQLASH

Annotatsiya

Mazkur maqolada *Punica granatum* (anor) o'simligining turli organlari - ildiz, poya va barglardan endofit bakteriyalar ajratib olindi. Ajratilgan izolyatlarning morfologik va madaniy xususiyatlari aniqlanib, ularning hujayra devori tuzilishi Gram bo'yash usuli yordamida mikroskopik tahlil qilindi. Endofit bakteriyalarning fitopatogen zamburug'larga qarshi antifungal faolligi *in vitro* sharoitida baholanib, yuqori faollik ko'rsatgan izolyatlar tanlab olindi. Olingan natijalar endofit bakteriyalarning biologik kurash vositasi sifatida qo'llanilish imkoniyatlarini ko'rsatadi.

Kalit so'zlar: *Punica granatum*; anor; endofit bakteriyalar; antifungallik; antibakteriallik; bionazorat

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ *PUNICA GRANATUM* И ОЦЕНКА ИХ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Аннотация

В данной статье из различных органов растения *Punica granatum* (гранат) - корней, стеблей и листьев - были выделены эндофитные бактерии. Выделенные изоляты были охарактеризованы по морфологическим и культурным признакам, а строение их клеточной стенки проанализировано с помощью микроскопии после окрашивания по Граму. Антифунгальная активность эндофитных бактерий против фитопатогенных грибов была оценена в условиях *in vitro*, и были отобраны изоляты с высокой биологической активностью. Полученные результаты демонстрируют потенциал использования эндофитных бактерий в качестве средств биологической защиты растений.

Ключевые слова: *Punica granatum*; гранат; эндофитные бактерии; антифунгальная активность; антибактериальная активность; биоконтроль.

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA FROM DIFFERENT ORGANS OF *PUNICA GRANATUM* AND ASSESSMENT OF THEIR ANTIFUNGAL ACTIVITY

Annotation

In this study, endophytic bacteria were isolated from various organs - roots, stems, and leaves - of the *Punica granatum* (pomegranate) plant. The morphological and cultural characteristics of the isolated strains were identified, and the structure of their cell walls was analyzed microscopically using the Gram staining method. The antifungal activity of the endophytic bacteria against phytopathogenic fungi was evaluated under *in vitro* conditions, and highly active isolates were selected. The results indicate the potential use of endophytic bacteria as biological control agents.

Key words: *Punica granatum*, pomegranate, endophytic bacteria, antifungal activity, antibacterial activity, biocontrol.

Kirish. Hozirgi zamon qishloq xo'jaligida ekologik barqarorlik va samaradorlikni oshirish maqsadida biotexnologik yondashuvlardan foydalanish dolzarb yo'nalishlardan biriga aylanib bormoqda. An'anaviy kimyoviy o'g'itlar va pestitsidlarning keng miqyosda qo'llanilishi tuproqning degradatsiyasiga, agroekotizimlarning buzilishiga hamda atrof-muhitga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin. Shu sababli, tabiiy mikroorganizmlardan iborat biologik stimulyatorlar va bioprotektantlar ishlab chiqish muqobil yondashuv sifatida e'tibor qozonmoqda.

Endofit bakteriyalar o'simliklarning ichki to'qimalarida yashovchi foydali mikroorganizmlar bo'lib, ular o'simlik o'sishi va rivojlanishini qo'llab-quvvatlash bilan birga, turli stress omillarga qarshi chidamliligini oshirishga ham xizmat qiladi. Ushbu bakteriyalar tomonidan sintez qilinadigan fitogormonlar, sideroforlar va turli xil gidrolitik fermentlar o'simliklarning oziq moddalarni yaxshiroq o'zlashtirishiga yordam beradi, ularning o'sish jarayonlarini faollashtiradi hamda patogen mikroorganizmlarga qarshi himoya tizimini kuchaytiradi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 23-oktabrdagi PF-5853-sonli "O'zbekiston Respublikasi qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020 - 2030-yillarga mo'ljallangan strategiyasini tasdiqlash" to'g'risidagi farmonida yer va suv resurslari, o'rmon fondidan oqilona foydalanishni nazarda tutuvchi tabiiy resurslardan oqilona foydalanish va atrof-muhitni muhofaza qilish tizimini takomillashtirish, fermer xo'jaliklarida mehnat unumdorligini oshirish, mahsulot sifatini yaxshilash, yuqori qo'shilgan qiymat yaratishga qaratilgan tarmoq dasturlarini ishlab chiqish orqali davlat xarajatlari samaradorligini oshirish va bosqichma-bosqich qayta taqsimlash ustuvor yo'nalish etib belgilangan [1].

Anor (*Punica granatum*) qimmatbaho mevali o'simliklardan biri bo'lib, uning turli organlarida yashovchi endofit bakteriyalar biologik faol moddalarning potentsial manbai bo'lishi mumkin. Ushbu mikroorganizmlarning antifungal xususiyatlari, fermentativ faolligi va o'simlik o'sishiga ta'siri qishloq xo'jaligi va mikrobiologiya sohalari uchun katta ilmiy va amaliy ahamiyatga ega. Mazkur tadqiqot anordan ajratilgan endofit bakteriyalarning agrobiotexnologik ahamiyatini baholashga qaratilgan bo'lib, ularning biologik stimulyator va bioprotektant sifatidagi potentsialini o'rganish orqali qishloq xo'jaligida yangi ekologik xavfsiz texnologiyalarni ishlab chiqishga hissa qo'shishi kutilmoqda.

Adabiyotlar sharhi. O'simliklar tabiiy ekologik muhitda yaxshi rivojlanishi uchun ekotizimning boshqa obyektlari bilan o'zaro aloqalar shakllantirishi mumkin. Ushbu aloqalar jarayonida mikroorganizmlar o'simliklar uchun eng muhim va foydali "sharik" lardan biri hisoblanadi [2].

Endofitlar (bakteriyalar, zamburug'lar, arxeylar va oomikotalar) o'simliklarning ichki to'qimalarida yashovchi mikroorganizmlar bo'lib, ular xo'jayin o'simlikka hech qanday tashqi zarar yetkazmaydi va ko'zga ko'rinadigan belgilarni yuzaga keltirmaydi [3].

Hozirda o'simlik mikrobiomi ilmiy jamoatchilikning katta e'tiborini tortmoqda, chunki u o'simliklarni og'ir ekologik sharoitlarga moslashtirish, ozuqa moddalari samaradorligini oshirish va yutilishini osonlashtirishda, shuningdek o'sishni rag'batlantirish va ikkilamchi metabolitlar ishlab chiqarish orqali o'simlikni patogen organizmlardan himoya qilishda muhim rol o'ynaydi [4].

Endofitlarning o'zaro manfaatli mavjudligi ham, o'z navbatida, juda qiziqarli bo'lib, ba'zi tadqiqotlarga ko'ra, ular o'z xo'jayinlarini stressga qarshi kurash tizimini yanada samarali ishga tushiruvchi "biologik tetiklashtiruvchilar" sifatida faoliyat yuritishini ko'rsatgan. Shuning uchun o'zaro manfaatli endofitlar o'zaro manfaatli bo'lmagan o'simliklarga qaraganda stressga qarshi kurashishda ancha samarali ishlaydi. Ko'pincha, bu endofitlar bakteriyalar va zamburug'lardan iborat bo'lib, ularning o'simlik xo'jayinlariga ta'siri keng qamrovli bo'lishi mumkin [5, 6].

Sonnggi tadqiqotlarda endofitik mikroblar, ya'ni bakteriyalar va zamburug'larning qishloq xo'jaligi, farmatsevtika va sanoat sohalari ostidagi hozirgi va kelajakdagi imkoniyatlarini o'rganilmoqda [7]. Endofitlar va ularning ikkilamchi metabolitlari, tibbiyotda yangi dori vositalari yaratish uchun boy va ishonchli manba bo'lib, ular antibiotiklar, antiseptiklar, antitumor dori va boshqa ko'plab muhim dori vositalari ishlab chiqilishida ishlatilishi mumkin [8].

Punica granatum (anor) o'simligi qadimdan xalq tabobatida keng qo'llanilib kelinadi. Mevasi atsidoz, dizenteriya, diareya, mikrob va gelmint infeksiyalari, shuningdek, qon ketish va nafas olish tizimi kasalliklariga qarshi an'anaviy davolovchi vosita sifatida ishlatilgan. Uning urug'larida estrogenik faol birikmalar – estron va estradiol mavjudligi aniqlangan. Quritilgan perikarp va meva sharbati esa kolik, kolit, menorragiya, oksiuroz, bosh og'rig'i, diuretik ta'sir, akne, qoziq, allergik dermatit va og'iz bo'shlig'i kasalliklarini davolashda samarali hisoblanadi. Bundan tashqari, *P. granatum* ekstraktlari prostata, ko'krak, yo'g'on ichak va o'pka saratoni kabi turli xil onkologik kasalliklarga nisbatan inhibitiv (to'xtatuvchi) ta'sir ko'rsatishi bilan ajralib turadi [9]. Shu jihatdan anor o'simligi endofit mikroorganizmlarini o'rganish ilmiy va amaliy ahamiyatga ega dolzarb tadqiqot hisoblanadi.

Tadqiqot metodologiyasi. O'simliklardan endofit bakteriyalar ajratib olish. Tadqiqot obyekti uchun tanlab olingan anor o'simligi na'munalari O'zbekiston Respublikasi Sirdaryo viloyatidan olib kelindi. Joylashuv koordinatalari: kenglik: 40.220639° N; uzunlik: 68.839944° E. Na'munalar 2023-yil oktabr oyida o'simlikning ildiz, poya va barg kabi organlaridan olindi. Bunda har ikkala o'simlikning 3 tupidan na'munalar yig'ib olindi. Olingan na'munalar steril paketlarga joylandi. Yig'ilgan na'munalardan endofit bakteriyalar ajratib olish uchun O'zbekiston Milliy universiteti Biologiya fakulteti Mikrobiologiya laboratoriyasiga olib kelindi. Tadqiqot davomida *Punica granatum* o'simligining turli organlaridan endofit bakteriyalarni ajratib olish uchun standart mikrobiologik usullar qo'llanildi. Na'munalar dastlab yot jismlardan tozalanib, keyinchalik 70 % li etanol va 4 % li natriy gipoxlorit eritmalarida sirt sterilizatsiya qilindi. Sterillangan o'simlik bo'laklari aseptik sharoitda GPA va NA kabi turli ozuqa muhitlariga inokulyatsiya qilindi. Sterillik nazorati uchun laminar havo oqimining aseptik sharoitlari maxsus nazorat Petri idishlari yordamida tekshirildi. Inokulyatsiya qilingan na'munalar 29°C haroratda 72 soat davomida inkubatsiya qilinib, hosil bo'lgan koloniyalar morfologik xususiyatlariga ko'ra ajratildi va sof kulturaga keltirildi. Sof kulturalar keyingi tadqiqotlarda foydalanish uchun qiyshaytirilgan agar muhitida +4°C haroratda saqlab qo'yildi [10].

Ajratib olingan endofit bakteriya izolyatlarining morfokultural xususiyatlarini o'rganish. Tadqiqot davomida *Punica granatum* o'simligidan ajratilgan endofit bakteriyalarning morfologik xususiyatlari o'rganildi. Koloniya rangi, hujayra shakli va harakatlanishi kuzatish usuli bilan baholandi. Bakterial hujayralarning tuzilishi Leica ICC50 W mikroskopida tahlil qilindi. Gram usulida bo'yash orqali bakteriyalarning hujayra devori tarkibi aniqlanib, Gram musbat bakteriyalar binafsha, Gram manfiy bakteriyalar esa pushti-qizil rang hosil qildi. Ushbu bosqich bakterial izolyatlarni to'liq tavsiflash va ularning turini aniqlash uchun muhim ahamiyat kasb etdi [11].

Ajratib olingan endofit bakteriyalarning fitopatogen zamburug'larga qarshi in vitro usulda antagonistik xususiyatlari aniqlash. Tadqiqotda *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* kabi patogen zamburug'larning o'sishini ingibitorlovchi endofit bakteriyalar aniqlash maqsad qilingan. Tajriba uchun KDA va Nutrient agar muhitlari aralashtirilib, patogen va antagonist bakteriyalar uchun optimal muhit yaratildi. Ajratib olingan bakteriyalarning antifungal faolligini aniqlash dual kultura usuli orqali amalga oshirildi. Inokulyatsiya qilingan kulturalar 25 °C haroratda 7 kun inkubatsiya qilinib, ingibirlanish zonasi orqali bakteriyalarning antifungal faolligi baholandi [12].

Tadqiqot natijalari va tahlili. O'simliklardan endofit bakteriyalar ajratib olish. O'tkazilgan tadqiqot natijasida anor o'simligining ildiz, poya va barg kabi organlaridan jami 29 ta sof holatdagi endofit bakteriya izolyatlari ajratib olindi. Ular organlari kesimida quyidagi taqsimlandi: ildizdan 11, poyadan 10 va bargdan 8 ta.

1-rasm. *Punica granatum* o'simligidan endofit bakteriyalar ajratish

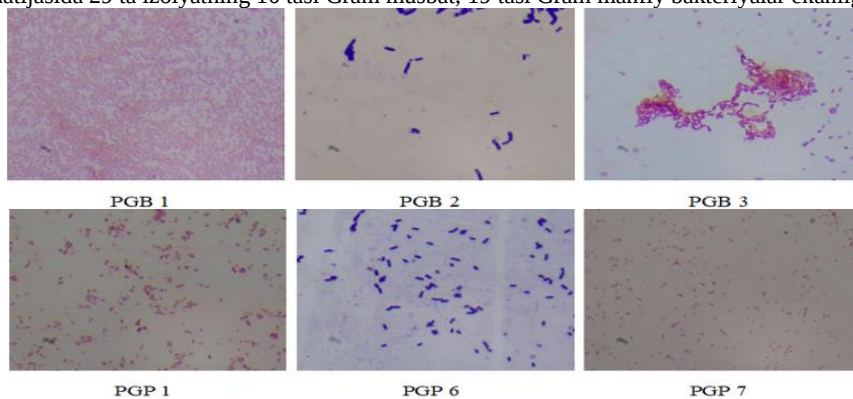
Ajratib olingan endofit bakteriya izolyatlarining morfokultural xususiyatlarini aniqlash. Anor o'simligidan ajratib olingan bakterial izolyatlarning hujayra shakli, hujayra devorining tuzilishini aniqlash maqsadida Gram usulda bo'yaldi va mikroskopiya qilindi.

1-jadval.

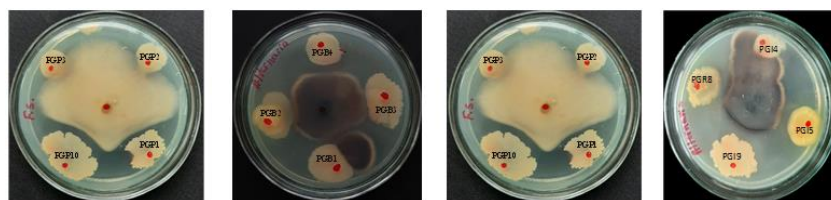
Punica granatum L. o'simligining turli organlari va rizosferasidan ajratib olingan izolyatlarning ba'zi morfologik va fiziologik xususiyatlari

№	O'simlik nomi	Izolyat nomi	Ajratilgan joyi	Harakatchanligi	Hujayra shakli	Gram bo'yalishi
1.	<i>Punica granatum</i>	PGB 1	barg	+	T	-
2.		PGB 2	barg	+	T	+
3.		PGB 3	barg	+	T	-
4.		PGB 4	barg	+	T	+
5.		PGB 5	barg	+	T	+
6.		PGB 6	barg	+	T	-
7.		PGB 7	barg	+	T	+
8.		PGB 8	barg	+	T	-
9.		PGP 1	poya	+	T	-
10.		PGP 2	poya	+	T	-
11.		PGP 3	poya	+	T	-
12.		PGP 4	poya	+	T	-
13.		PGP 5	poya	+	T	-
14.		PGP 6	poya	-	K	+
15.		PGP 7	poya	+	T	-
16.		PGP 8	poya	+	T	-
17.		PGP 9	poya	-	K	+
18.		PGP 10	poya	+	T	-
19.		PGI 1	ildiz	+	T	-
20.		PGI 2	ildiz	-	T	-
21.		PGI 3	ildiz	+	T	-
22.		PGI 4	ildiz	+	T	+
23.		PGI 5	ildiz	+	T	+
24.		PGI 6	ildiz	+	T	-
25.		PGI 7	ildiz	+	T	-
26.		PGI 8	ildiz	+	T	+
27.		PGI 9	ildiz	+	T	-
28.		PGI 10	ildiz	-	K	+
29.		PGI 11	ildiz	+	T	-

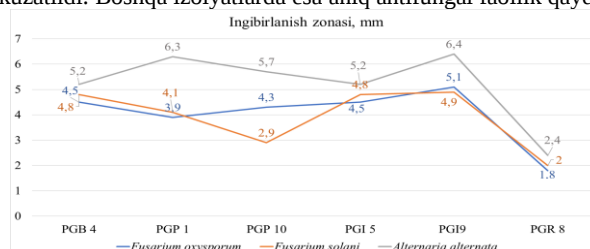
Tadqiqot natijasida 29 ta izolyatning 10 tasi Gram musbat, 19 tasi Gram manfiy bakteriyalar ekanligi aniqlandi.

2-rasm. *Punica granatum* o'simligi organalaridan ajratib olingan ba'zi endofit bakteriya izolyatlarining Gram usulda bo'yalishi (1000 marta kattalashtirilgan)

Ajratib olingan endofit bakteriyalarning fitopatogen zamburug'larga qarshi *in vitro* usulda antagonistik xususiyatlarini aniqlash. O'tkazilgan tadqiqotda anor (*Punica granatum*) o'simligining turli organlaridan ajratilgan endofit bakteriyalarning antifungal faolligi "dual kultura" usuli orqali baholandi. Bu izolyatlarning *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum* va *Alternaria alternata* kabi fitopatogen zamburug'larga nisbatan o'sishni ingibitsiya qilish qobiliyati aniqlanib, ayrim bakteriyalar sezilarli antagonistik faollik namoyon etdi. Natijada zamburug'larni o'sishini eng faol ingibirlagan 6 ta izolyat (PGB4, PGB8, PGP1, PGP10, PGI4, PGI9) tanlab olindi.



3-rasm. Ajratib olingan izolyatlarning *F.oxysporum* va *A.alternata* zamburug'lariga qarshi antagonistik faolligi
Alternaria alternata ga nisbatan PGB4 (5,2 mm), PGP1 (4,3 mm) va PGP10 (3,1 mm) izolyatlari sezilarli ingibitsiya zonasi hosil qildi. Shu bilan birga, PGP1 va PGP10 izolyatlari *F. solani* ga qarshi ham mos ravishda 4,1 mm va 2,9 mm li ingibitsiya zonalarini hosil qilgani kuzatildi. Boshqa izolyatlarda esa aniq antifungal faollik qayd etilmadi.



4-rasm. *Punica granatum* o'simligidan ajratib olingan bakteriyalarning antifungal faolligi: ingibirlanish zonasi, mm

Xulosa va takliflar. Olib borilgan tadqiqot natijalari *Punica granatum* o'simligining turli organlaridan ajratilgan ayrim endofit bakterial izolyatlarning fitopatogen zamburug'larga nisbatan sezilarli darajadagi antifungal faollikka ega ekanligini ko'rsatdi. Bakterial shtammlarning ayrimlari yuqori darajadagi antagonistik xususiyat namoyon etdi, ba'zilarida esa bu faollik nisbatan past darajada kuzatildi. Natijalarga ko'ra, PGB4, PGP1, PGP10, PGI5, PGI9, PGR8 va PGR9 kabi izolyatlar o'simlik patogenlariga qarshi yuqori antagonistik faollik ko'rsatib, istiqbolli biokontrol agentlar sifatida ajralib chiqdi. Mazkur topilmalar endofit bakteriyalarning ekologik xavfsiz, samarali va barqaror biokimyo vositasi sifatida qishloq xo'jaligi amaliyotida qo'llanish imkoniyatini ko'rsatadi.

ADABIYOTLAR

1. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 23-oktabrdagi PF-5853-sonli "O'zbekiston Respublikasi qishloq xo'jaligini rivojlantirishning 2020 — 2030-yillarga mo'ljallangan strategiyasini tasdiqlash to'g'risida" gi farmoni
2. Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological research*, 183, 92-99.
3. Araújo, W. L., Maccheroni Jr, W., Aguilar-Vildoso, C. I., Barroso, P. A., Saridakis, H. O., & Azevedo, J. L. (2001). Variability and interactions between endophytic bacteria and fungi isolated from leaf tissues of citrus rootstocks. *Canadian journal of microbiology*, 47(3), 229-236.
4. Frank, A. C., Saldierna Guzmán, J. P., & Shay, J. E. (2017). Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms*, 5(4), 70.
5. Abdalla, M.A., Matasyoh, J.C., 2014. Endophytes as producers of peptides: an overview about the recently discovered peptides from endophytic microbes. *Nat. Prod. Bioprospect.* 4 (5), 257–270.
6. Trivedi P, Delgado-Baquerizo M, Trivedi C, Hamonts K, Anderson IC, Singh BK. Keystone microbial taxa regulate the invasion of a fungal pathogen in agroecosystems. *Soil Biol Biochem* 2017;111:10–4
7. Burrigoni, S. G., & Jeon, J. (2021). Applications of endophytic microbes in agriculture, biotechnology, medicine, and beyond. *Microbiological research*, 245, 126691.
8. Taul'e, C., Vaz-Jauri, P., Battistoni, F., 2021. Insights into the early stages of plant–endophytic bacteria interaction. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 37 (1), 1–9.
9. Rahimi, H. R., Arastoo, M., & Ostad, S. N. (2012). A comprehensive review of *Punica granatum* (Pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and molecular biology researches. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 11(2), 385.
10. Abdusamatov, S., Yansenjiang, A., Mamarakhimov, O., Kuziyev, S., Kudaybergenova, U., & Kholboeva, G. (2025). Isolation and characterization of *Lycium barbarum* endophytic bacteria. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 173, p. 01013). EDP Sciences.
11. Dremova, O., Mimmler, M., Paeslack, N., Khuu, M. P., Gao, Z., Bosmann, M., Reinhardt, C. (2023). Sterility testing of germ-free mouse colonies. *Frontiers in Immunology*, 14, 1275109.
12. Abdusamatov, S., Jabborova, D., Mehta, J., Nama, K. S., Barot, M., & Saharan, B. S. (2024). Exploring fungal endophytes in a medicinal plant, *Lavandula officinalis* L.: Isolation, characterization, and plant growth-promoting potential. *Annals of Phytomedicine*, 13(2), 1-9.