



Qunduz NORMURODOVA,

O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiobiologiya va biotexnologiya kafedrasi prof.v.b., b.f.d.

Tuxtasin ABDRAXMANOV,

O'zMU Biologiya fakulteti dekani, professor

Mirzakamol AYUBOV,

O'zR FA Genomika va bioinformatika markazi direktor o'rinnbosari, b.f.n.

Maftuna KARIMBOEVA,

O'zMU Biologiya Tuproqshunoslik kafedrasi stajyor-tadqiqotchi

O'g'iljon JAMALOVA,

O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiobiologiya va biotexnologiya kafedrasi tayanch doktoranti

Sevara RAJABOVA,

O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiobiologiya va virusologiya mutaxassisligi 2-bosqich magistranti

Bobur ABDUKARIMOV,

O'zMU Biologiya fakulteti 2-bosqich talabasi

Hilola G'AFFAROVA,

O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiobiologiya va biotexnologiya kafedrasi o'qituvchisi

MICROBIOLOGICAL MONITORING OF THE ARAL REGION

Annotation

It is of great importance to study microbiological monitoring of highly saline residues of swampy and sandy desert soils formed in the Aral Sea region, to isolate active microorganisms living in extreme conditions, and to create new generation microbiological preparations based on them. Such local microorganisms are easily digestible sources of nitrogen, potassium and phosphorus, as well as satisfy the natural need for phytohormones and increase plant flexibility.

Key words. Aral region, salinity, residual swamps, sandy desert soils, microorganisms, isolate, electrophoresis.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПРИАРАЛЬЯ

Аннотация

Имеет большое значение изучение микробиологического мониторинга сильно засоленных остатков болотных и песчаных пустынных почв, сформировавшихся в Приаралье, выделение активных микроорганизмов, обитающих в экстремальных условиях, а также создание микробиологических препаратов нового поколения на их основе. Такие местные микроорганизмы являются легкоусвояемыми источниками азота, калия и фосфора, а также удовлетворяют естественную потребность в фитогормонах и повышают гибкость растений.

Ключевые слова: Приаралья, засоление, остаточные болота, песчаные пустынные почвы, микроорганизмы, изолят, электрофорез.

OROL TUBI HEDUDLARINING MIKROBIOLOGIK MONITORINGI

Annotatsiya

Ushbu maqolada Orol tubi hududlarini endi shakllanayotgan kuchli sho'rlangan qoldiq botqoq, qumli cho'l tuproqlarning mikrobiologik monitoringini o'rganish, ekstremal sharoitda yashaydigan faol mikroorganizmlarni ajratib olish va ular asosida mikrobiologik preparatlarning yangi avlodini yaratishga katta ahamiyat qaratilgan. Ta'kidlash joizki, bunday mahalliy mikroorganizmlar sho'rlangan, qoldiq botqoq, qumli cho'l tuproqlarda o'sadigan o'simliklar oson o'zlashtira oladigan azot, kaliy va fosfor manbalarini hamda fitogormonlarga bo'lgan tabiiy ehtiyojini ta'minlaydi, o'simliklarning moslashuvchanligini oshiradi.

Kalit so'zlar. Orol tubi, sho'rlanish, qoldiq botqoq, qumli cho'l tuproqlari, mikroorganizm, izolyat, elektroforez.

Kirish. Bugungi kunda, Orolni qurigan tubida shakllanayotgan kuchli sho'rlangan, qoldiq botqoq, qumli cho'l tuproqlarining qaysi qatlamlarida qanday mikroorganizmlar uchrashligini monitoring qilish orqali ekstremal sharoitda yashovchini mikroorganizmlar xilma-xilligini o'rganish, ulardan ko'plab biologik faol ikkilamchi metabolitlar sintezlovchi (masalan, oqsillar, fermentlar, vitaminlar, fitogormonlar va h.k.) [1-5] faol mikroorganizmlarini ajratish va tanlab olish, o'simliklar florasini qayta tiklash va ularning ildiz rivojlanishi hamda turli xil stresslarga chidamliliginini ta'minlash dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi [1-2, 5-8]. Bundan tashqari, qishloq xo'jalik amaliyotida ishlab chiqarish jarayoni eng ko'p energiya talab qiladigan mineral o'g'itlarga qaraganda, shu hududga mos bo'lgan mikroorganizmlar asosida yaratilgan yangi avlod mikrobiologik preparatlarning ishlab chiqarish qimmat hisoblanmaydi. Qolaversa, mikrobiologik preparatlardan foydalanan tuproq unumdonligi va biologik xilma-xillikga, eng asosiysi inson salomatligiga salbiy ta'sir ko'rsatmaydi. Turli sho'rlanish sharoitlariga moslasha olgan bunday mikroorganizmlar o'simliklarning mineral azot hamda fitogormonlarga bo'lgan tabiiy ehtiyojini qondiradi va mineral o'g'itlarning o'simliklarga to'laqonli o'zlashtirilishiga imkon beradi [4-7].

Xususan, turli qurg'oqchil va sho'rlanish sharoitlarida yashaydigan, fitogormonlar sintezlaydigan bunday mikroorganizmlarni aynan Orolni qurigan tubida shakllanayotgan sho'rlangan, qoldiq botqoq, qumli cho'l tuproqlaridan ajratish, ularning tur tarkibini aniqlash, mikrobiologik va assotsiativ-simbiotik xususiyatlarini o'rganish, NKP (azot, kaliy va fosfor) o'zlashtirish imkoniyatlarining an'anaviy shtammlarga nisbatan afzalliklarini o'rganish ishning asosiy maqsadlaridan biri hisoblanadi [1-2]. Bu o'z o'zidan, qoldiq botqoq, qumli, qorg'oqchil va sho'rlangan tuproqlarda ham o'simliklarni rivojlanishiga

ijobiy ta'sir qiluvchi, hattoki bunday hududlarda mevali o'simliklar florasini qayta tiklashda qo'llaniladigan samarali mikrobiologik preparatlarning yangi avlodlarini yaratish va ishlab chiqarish istiqbollarini ochadi.

Tadqiqotlar va usullar. Orolni qurigan tubida endi shakllanayotgan sho'rangan qoldiq botqoq, qumli cho'l tupoqlaridan namunalar olib kelindi va mikroorganizmlar florasini monitoringi o'tkazildi. Bunda, olib kelingan har bir namunadan 1gramm olinib, 100 ml sterilangan suvgaga solindi va yaxshilab aralashdirildi. So'ngra, aralashma tindirilib, suspenziyadan 0,1 ml olinib, tayyorlab qo'yilgan go'sht peptonli agar (GPA), Chapek, Eshbi va Gauze kabi ozuqa muhitlariga ekildi. Inkubatsiya 37°C termostatda 48 soat davomida amalga oshirildi. 48chi soatdan boshlab Petri likopchasida xilma-xil izolyatlar o'sishi kuzatildi va alohida o'sib chiqqan izolyatlar ajratildi. Ajratib olingen izolyatlar magniy va kalsiy miqdori nisbatan ko'proq bo'lgan ozuqa muhitlariga ekilganda, gidroliz zona hosil qilishi aniqlandi. Ajratib va tanlab olingen izolyatni turini aniqlash uchun uning DNKsini ajratib olish kerak, keyin elektroforez usuli yordamida tozalik darajasi va molekulyar massasini aniqlash kerak bo'ladi. Buning uchun, izolyat boy ozuqa muhiti hisoblangan 5 ml GPA da 1 kun o'stirildi, hujayrani cho'ktirish uchun esa 1-2 daqiqa 8000 ayl./daq. sentrifuga qilindi. So'ngra, supernatant olib tashlanib, yana 1,5 ml o'sib chiqqan kulturadan solinadi va sentrifuga qilinadi. Dozator yordamida supernatantni hammasi olib tashlanadi va hosil bo'lgan cho'kma ustiga pH muhiti 8,0 bo'lgan 10mM Tris NCldan 500 ml solinib, eritma 65°C haroratda 30 daqiqa inkubatsiya qilinadi. Keyin oqsillar denaturatsiyasi uchun 24:1 nisbatda xloroform va izoamil spirti qo'shiladi va yana sentrifuga qilinadi. Hosil bo'lgan oq rangdagi qavatga tegib ketmasdan 450 ml yuqoridaq fazaga olinadi va unga teng miqdorda izopropanol solinadi. Inkubatsiya davri 20 daqiqa -20°C haroratda yoki 60 daqiqa xona haroratida olinadi. Yuqori tezlikda sentrifuga qilinib, unga 1ml 70% etil spirti qo'shiladi va yana yuqori tezlikda 5 daqiqa sentrifuga qilinadi. Ehtiyyotlik bilan etanol qavati olinib, probirkani og'zi etanol batamom tugaguniga qadar bir necha daqiqa ochiq qoldiriladi. So'ngra DNKnii eritish uchun cho'kmaga 50-100mkl toza distillangan suv solinadi. Tayyor bo'lgan DNKnii turli xil molekulyarno-biologik tekshiruvlar, masalan PZR yoki sekvenirlash uchun ishlatalish mumkin bo'ladi.

Olingen natijalar va ularning tahlili. So'ngegi yillarda, Orolni qurigan tubida tarqalgan sho'rangan va qurg'oqchil tupoqlarini mexanik tarkibi jihatdan og'ir, o'rta, yengil qumoqli va qumloqli bo'lib, gumus miqdori 0,2-0,5%, azot miqdori judayam kam 0,02-0,04%, karbonatlar 7,0-8,0%, gips miqdori 0,1-0,8%ni tashkil etishi o'rganilgan bo'lsa, ayrim kuchli sho'rangan hududlarda bu ko'rsatgich 1,5-4,6% gacha va undanam yuqoriroq ekanligi aniqlangan [1-5]. Shunga ko'ra, qurg'oqchil va sho'rangan yerlar restrukturizatsiyasi va faol NKP (azot, kaliy va fosfor) o'zlashtiruvchi ekstremal sharoitga chidamlı mikroorganizmlar yordamida botqoq va qumli hududlarda ham o'simliklarning o'sishi va rivojlanishini ta'minlash maqsadida, Orol tubi qurg'oqchil, qoldiq botqoq, qumli cho'l va sho'rangan hududlarining mikrobiologik monitoringini o'rganish, qolaversa tupoq tarkibidagi patogen mikroorganizmlarni zararsizlanturuvchi antagonistik xususiyatga ega mikroorganizmlar asosida biopreparatlar yaratish, tupoq mikrostrukturasini yaxshilash va tarkibining buzilishini oldini olish, o'simliklarni turli kasaliklarga chidamliligini oshirish uchun mikroorganizmlar xilma-xilligi o'rganildi.

Bundan oldingi tadqiqotlarimizda, Orol tubi atrofi va nol nuqtasi hududlarining har xil sho'rangan tupoqlaridan namuna olinib, go'sht peptonli agar (GPA), Chapek va Eshbi ozuqa muhitlariga ekilgan va 37°C termostatda 48 soat davomida inkubatsiya qilinib, mikroorganizmlar xilma-xilligi o'rganilgan [1-3].

Orol tubi hududlarining nulevoy nuqtasidagi 0-1sm, 1-19sm, 19-45sm, 45-70sm va 70-85 tupoq qatlamlari o'rganilib, ulardan 70-85sm oraliqlaridagi tupoq namunalarida turli xil bakteriya va zamburug' avlodlariga mansub mikroorganizmlar florasini mayjudligi aniqlangan. Xususan, 0-1sm tupoqda 36×10^6 ta, 1-19sm tupoqda 11×10^6 ta, 19-45sm tupoqda 52×10^4 , 45-70sm oraliqdagi tupoq namunasida eng ko'p mikroorganizmlar florasi uchrashi kuzatilgan bo'lsa, 70-85sm oraliqlaridagi tupoq namunalarida 137×10^3 mikroorganizmlar florasi uchrashi aniqlangan [5].

Yuqorida keltirilgan ma'lumotlardan kelib chiqqan holda, ushbu tadqiqotimizda turli qatlamlardan ajratib olingen mikroorganizmlarni skrinigiga alohida e'tibor qaratildi. Bunda, Orol tubi sho'rangan hududlaridan keltirilgan tupoq namunalaridagi mikroorganizmlar asosan 19-30sm va 70-85sm oraliqlaridagi tupoq namunalarida mikroblari olami o'rganildi. Ayniqsa, qurg'oqchil, qoldiq botqoq, qumli va sho'rangan hududlarining mikrobiologik monitoringi o'rganilganda, 70-85sm oraliqlaridagi 1ta izolyat noyob qobiliyatga ega ekanligi Eshbi, Chapek va GPA ozuqa muhitlarida aniqlandi (1-rasm).



1-Rasm. Orol tubini sho'rangan, qoldiq botqoq va qumli tupoq namunalarini 70-85sm oralig'idagi izolyatning turli ozuqa muhitlarida o'sishi va rivojlanishi

Bunda, olingen natjalardan ham ko'rinish turibdiki, Orol tubini sho'rangan, qoldiq botqoq va qumli tupoq namunalarini 70-85sm oralig'idagi izolyatning turli ozuqa muhitlarida o'sishi va rivojlanishi, eng assosiysi magniy va kalsiyli ozuqa muhitida o'sib, ularni parchalashi bu izolyatni noyob izolyat ekanligidan dalolat beradi. Shunga ko'ra, ushbu noyob izolyatni turini aniqlash uchun navbatdag'i tadqiqotni amalga oshirdik. Navbatdag'i tadqiqotimiz, Orol tubi hududlaridan keltirilgan namunalaridagi 70-85sm oralig'idagi 1ta izolyat noyob qobiliyatga ega ekanligini inobatga olini holda, ushbu izolyatni molekulyar identifikatsiya qilish va uning turini aniqlash maqsadida xloformli ekstraksiyalash usuli yordamida aniqlandi izolyat DNA genomi ajratib olindi. Ajratib olingen DNKnii tozalik darajasini tekshirish uchun elektroforez usulidan foydalanildi (2-rasm).



2-Rasm. Orol tubini sho'rangan, qoldiq botqoq va qumli cho'l tuproq namunalarini 70-85sm oralig'idagi izolyatning elektroforez usulida tozalik darajasi

Olingen natijalarga ko'ra, Orol tubini sho'rangan, qoldiq botqoq va qumli tuproq namunalarini 70-85sm oralig'idagi ajratib olingen noyob izolyatning DNK genomi elektroforez usuli yordamida toza ekanligini ko'rsatdi. Erishilgan natija asosida ushbu izolyatning turini aniqlash uchun sekvenlash usulini amalga oshirish uchun izolyatning DNK genomi bir necha marta ko'paytirib qo'yildi.

Xulosa. Shunday qilib, Orol tubi hududlari mikrobiologik monitoring qilinganda, asosan, 0-1sm tuproqda $36-42 \times 10^6$ ta, 1-19sm tuproqda $11-15 \times 10^6$ ta, 19-45sm tuproqda $52-64 \times 10^4$, 45-70sm tuproqda eng ko'p, 70-85sm tuproq namunalarida $137-151 \times 10^3$ turli xil avlodga mansub mikroorganizmlar florasi mavjudligi aniqlangan. Shuningdek, Orol tubini sho'rangan, qoldiq botqoq va qumli tuproq namunalarini 70-85sm oralig'idagi izolyatning turli ozuqa muhitlarda o'sishi va rivojlanishi, magniy va kalsiyli ozuqa muhitida o'sib, ularni parchalashi bu izolyatni noyob izolyat ekanligini ko'rsatdi. Ushbu noyob izolyatning DNK genomi elektroforez usulsi yordamida toza ekanligi aniqlandi.

Demak, Orol tubini har xil darajada sho'rangan maydonlaridan mikroorganizmlarni ajratib olish va ularni monitoring qilish shuni ko'rsatadi, ularning morfologik-fiziologik va ikkilamchi faol moddalar sintezlash qobiliyatlarini asosida biopreparat yaratish, sho'rangan, qoldiq botqoq, qumli va qurg'oqchil bo'lgan maydonlarda ham o'simliklar olamini qayta tiklashga zamin yaratish, ya'ni sho'rangan va qurg'oqchil sharoitlarda o'simliklar florasini qayta tiklanishini ta'minlaydigan biologik faol bo'lgan mahalliy shtammlar asosidagi mikrobiologik preparatlarning yangi avlodini yaratish imkoniyati hosil bo'ladi.

ADABIYOTLAR

1. Normurodova Q.T., Abdrazmanov T., Tojiev B.B., Shoxiddinova M.N., G'affarova H.F. Orol bo'yi hududlarining sho'rangan tuproqlarida mikroorganizmlar florasini o'rganish // O'zbekiston Respublika Fanlar Akademiyasining ma'ruzalari, 2022. – № 5. 66-71 betlar.
2. Abdrazmanov T.A., Jabbarov Z.A., Karimboeva M.Q., Imomov O.N., Abdullaev Sh.Z. Qurg'oqchil hududlarda preparatlarni qo'llashning ahamiyati // Материалы Международный конференции "Современные проблемы экологии и охраны окружающей среды и биотехнологии", 15-16 июня, 2022 г, Ташкент, Узбекистан. С. 670-672.
3. Karimov M.U., Qodirova D.A., Burxanova D.U. O'zbekiston tuproqlari va ulardan qishloq xo'jaligida samarali foydalanan // 100 kitob to'plami tavsiyanoma. Nashriyot uyi "Tasvir" – 2021 yil, 8 bet.
4. Чеботарь В.К., Заплаткин А.Н., Щербаков А.В., и др. Микробные препараты на основе эндофитных и ризобактерий, которые перспективны для повышения продуктивности и эффективности использования минеральных удобрений у ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и овощных культур // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51 — № 3. – С. 335–342.
5. Leblanc J.C., Gonçalves, E.R. Mohn W.W. Global response to desiccation stress in the soil actinomycete *Rhodococcus jostii* RHA1. Appl. Environ. Microbiol. 2008, 74, 2627-2636. 29.
6. Schimel J., Balser T.C., Wallenstein M. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function. Ecology 2007, 88, 1386-1394.
7. Vilchez J.I., Garcia-Fontana C., Roman-Naranjo D., Gonzalez-Lopez J., Manzanera M. Plant drought tolerance enhancement by trehalose production of desiccation-tolerant microorganisms. Front. Microbiol. 2016, 7, 1577 33.