ARUNDO DONAX L. O‘SIMLIGINING ENDOFIT BAKTERIYA VA ZAMBURUG‘LARINI AJRATIB OLISH VA ULARNI IDENIFIKATSIYA QILISH

Mirzaolimov Mirjalol Muxammadjon o‘g‘li
Farg‘ona davlat universiteti tayanch doktoranti

Anotatsiya: Ushbu maqolada *Arundo donax* L. o‘simligidan endofit bakteriyalar va zamburug‘larni ajratib olish, ular bilan bog‘liq sterilizatsiya, oziqlantiruvchi muhitlarga inokulyatsiya qilish hamda toza izolyatlarni olish bosqichlari yoritilgan. Shuningdek, ajratilgan mikroorganizmlarning morfologik, biokimyoviy va molekulyar identifikatsiya usullari bayon etilgan. Olib borilgan tadqiqotlar natijasida ilk bor *Arundo donax* L. o‘simligining ildiz to‘qimalaridan *Bacillus subtilis* va *Pichia kudriavzevii* endofit mikroorganizmlari ajratib olindi. Ushbu mikroorganizmlar O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti huzuridagi Tibbiyot bosh boshqarmasining Sanitar-epidemiologik nazorat bo‘limi tomonidan tasdiqlandi. Tadqiqot natijalari *Arundo donax* L. o‘simligida endofit mikroorganizmlarning biologik xilma-xilligini aniqlash, ularning ekologik va biotexnologik ahamiyatini baholashga xizmat qiladi. *Bacillus subtilis* endofit bakteriyasi asosida kompleks biologik faollikka ega “Bioarundo” nomli preparat ishlab chiqildi. Ushbu biopreparatni qishloq ho‘jaligida o‘simliklarning turli xildagi kasalliklariga qarshi kurashuvchi va hosildorligini oshiruvchi vosita sifatida qo‘llashni tavsiya etildi.

Kalit so‘zlar: Arundo donax, endofit mikroorganizmlar, Bacillus subtilis, Pichia kudriavzevii, identifikatsiya, Bioarundo.

Аннотация: В данной статье изложены этапы выделения эндофитных бактерий и грибов из растения *Arundo donax* L., включая стерилизацию образцов, инокуляцию на питательные среды и получение чистых изолятов. Также представлены методы морфологической, биохимической и молекулярной идентификации выделенных микроорганизмов. В ходе проведённых исследований впервые из корневых тканей растения *Arundo donax* L. были выделены эндофитные микроорганизмы *Bacillus subtilis* и *Pichia kudriavzevii*. Указанные микроорганизмы были официально подтверждены Санитарно-эпидемиологическим контролем при Главном медицинском управлении при Президенте Республики Узбекистан. Полученные результаты способствуют изучению биологического разнообразия эндофитных микроорганизмов *Arundo donax* L., а также оценке их экологического и биотехнологического потенциала. На основе эндофитной бактерии *Bacillus subtilis* был разработан препарат под названием «Bioarundo» с комплексной биологической активностью. Применение данного биопрепарата рекомендуется в сельском хозяйстве как

ISSN 3030-3907

эффективное средство против различных заболеваний растений, а также для повышения их продуктивности.

Ключевые слова: Arundo donax, эндофиты, Bacillus subtilis, Pichia kudriavzevii, идентификация, Bioarundo.

Annotation: This article describes the stages of isolating endophytic bacteria and fungi from *Arundo donax* L., including sample sterilization, inoculation onto nutrient media, and obtaining pure isolates. Additionally, the morphological, biochemical, and molecular identification methods used to characterize the isolated microorganisms are presented. As a result of the conducted research, endophytic microorganisms *Bacillus subtilis* and *Pichia kudriavzevii* were isolated for the first time from the root tissues of *Arundo donax* L. These microorganisms were officially confirmed by the Sanitary-Epidemiological Control Department under the Main Medical Directorate of the President of the Republic of Uzbekistan. The findings contribute to the assessment of the biological diversity of endophytes in *Arundo donax* L. and to the evaluation of their ecological and biotechnological significance. Based on the endophytic bacterium *Bacillus subtilis*, a biologically active complex preparation named “Bioarundo” was developed. The application of this biopreparation in agriculture is recommended as an effective means for controlling various plant diseases and improving yield performance.

Keywords: Arundo donax, endophytes, Bacillus subtilis, Pichia kudriavzevii, identification, Bioarundo.

Kirish

Endofit mikroorganizmlar – bu o‘simlik to‘qimalarida yashab, ularga zarar yetkazmasdan simbioz tarzda yashovchi mikroorganizmlar hisoblanadi. Ular o‘simlikning o‘sishi va rivojlanishida muhim rol o‘ynaydi, chunki ular turli bioaktiv moddalarning ishlab chiqaruvchisi sifatida o‘simlikning patogenlarga qarshi chidamliligini oshiradi. *Arundo donax* L. — biomassa manbai sifatida keng tadqiq etilayotgan, tez o‘suvchi ko‘p yillik o‘simlik bo‘lib, ekologik barqarorligi va turli biotik hamda abiotik stresslarga chidamliligi bilan ajralib turadi. Uning yuqori moslashuvchanligi va stressga chidamliligi ko‘pincha endofit mikroorganizmlar bilan o‘zaro aloqasi bilan bog‘liq. Shu sababli, *Arundo donax* L. o‘simligidan endofit bakteriya va zamburug‘larni ajratib olish va ularni identifikatsiya qilish muhim ilmiy-amaliy ahamiyatga ega.



ADABIYOTLAR TAHLILI

Endofit zamburug‘lar — yer yuzida keng tarqalgan, ekologik va biotexnologik ahamiyatga ega organizmlar hisoblanadi. Ular ko‘plab muhitlarda

ISSN 3030-3907

yashab, turli mikroorganizmlar bilan raqobatlashish jarayonida noyob himoya mexanizmlarini ishlab chiqqan. Shu sababli zamburug‘lar insoniyat uchun farmatsevtika, qishloq xo‘jaligi, oziq-ovqat sanoati, ekologiya va boshqa ko‘plab yo‘nalishlarda hali to‘liq o‘rganilmagan, ammo katta salohiyatga ega manba sifatida qaraladi. Endofit mikroorganizmlarning biologik faolligi so‘nggi yillarda ko‘plab tadqiqotlarda isbotlangan. Ular fitopatogenlarga qarshi kurashishda, o‘simlik gormonlarini sintez qilishda va oziq moddalarning o‘zlashtirilishini yaxshilashda ishtirok etadi. Endofit zamburug‘lar turli xil o‘simliklar bilan simbiozda yashaydi. Ular asosan quyidagi avlodlarga mansub: Fusarium spp., Aspergillus spp., Penicillium spp., Colletotrichum spp., Alternaria spp., Cladosporium spp., Chaetomium spp., Phomopsis spp., Nigrospora spp., Xylaria spp. bu zamburug‘lar ko‘pincha o‘simlikning bargi, novdasi, ildizi va ba’zida urug‘larida uchraydi.

Endofit zamburug‘lar o‘z hayoti davomida turli xil ikkilamchi metabolitlarni sintez qiladi. Bu metabolitlar biologik faollikka ega bo‘lib, farmatsevtika, agronomiya va biotexnologiya sohalarida keng tadbiq etiladi.

1. Alkaloidlar

- Endofit zamburug‘lar ayrim hollarda o‘simliklar sintez qiladigan alkaloidlarni takrorlab chiqarishi mumkin.
- Masalan, Aspergillus spp, Penicillium chrysogenum XNM-12, Ralstonia solanacearum, Xanthomonas oryzae Neotyphodium spp., Hypomontagnella monticulosa Zg15SU deb nomlangan zamburug‘lardan Asperthrin, Oxalicine C, Scalarane, Asperlenines A–C alkaloidlari sintez qilishi aniqlangan[1-4].

2. Terpenoidlar

- Terpenoidlar — bu antibakterial va antitumor xususiyatlarga ega moddalar.
- Pestalotiopsis microspora, Rhizophora stylosa, Penicillium brevicompactum, Aspergillus terreus, Fusarium oxysporum, Rhizopycnis vagum Nitaf 22, Trichoderma virens ushbu endofit zamburug‘ilari o‘simliklardan ajratilgan bo‘lib, 1-methoxypestabacillin B, rhizoperemophilanes A-N, trichocarotins I-M, ophiobolins singari seskiterpenoidlar ajratib olingan[5-8].

3. Poliketidlar

- Bular asosan antibakterial va antifungal xossalarga ega.
- Misol: *Fusarium oxysporum*, *Phaeosphaeria fuckelii, Chaetomium seminudum, Aspergillus fumigatus va Colletotrichum gloeosporioides* tomonidan ishlab chiqarilgan phaeosphaonesa, chaetosemin, colletotrichin ikkilamchi metabolitlari misol bo‘ladi [7-10].

TADQIQOT METODOLOGIYASI
MUHOKAMA VA NATIJALAR

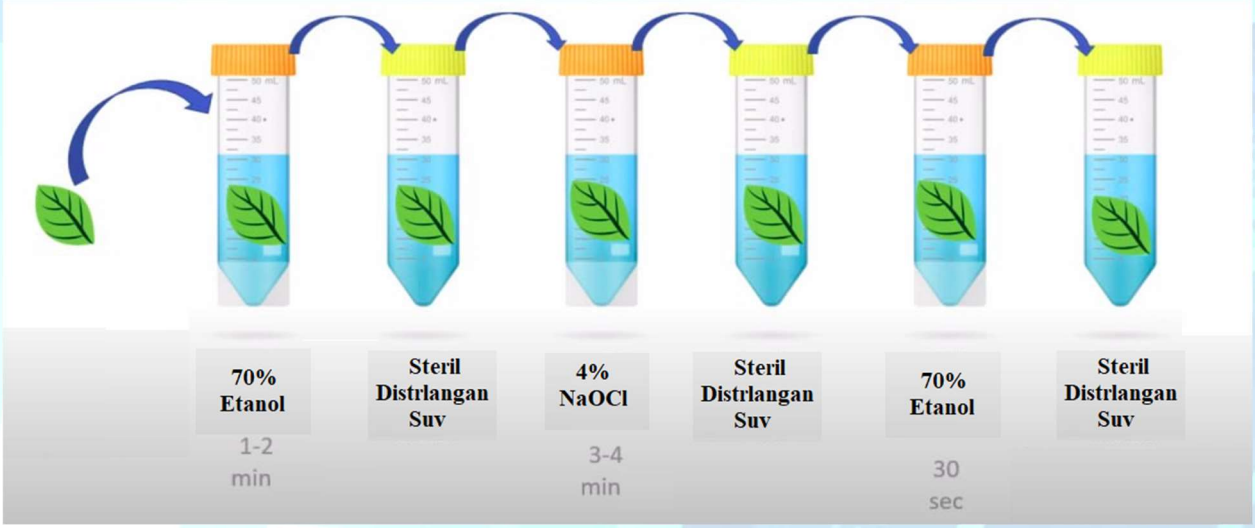
ISSN 3030-3907

Materiallar va usullar

1. Namuna tayyorlash

Namuna olish: Sog‘lom *Arundo donax* L. o‘simligining ildiz, poya va barg qismlaridan steril sharoitda namunalari olindi.

Yuvish: Namunalar distrlangan suvda yuvildi, so‘ngra 70% etanol va 4% natriy gipoxlorit eritmasi bilan yuzasini sterilizatsiya qilindi(1-rasm). Steril distillangan suv bilan 3-4 marta yuviladi (sterilizatsiyadan qolgan kimyoviy moddalarni yo‘qotish uchun).



1-rasm. Namunalar sterilizatsiya qilish

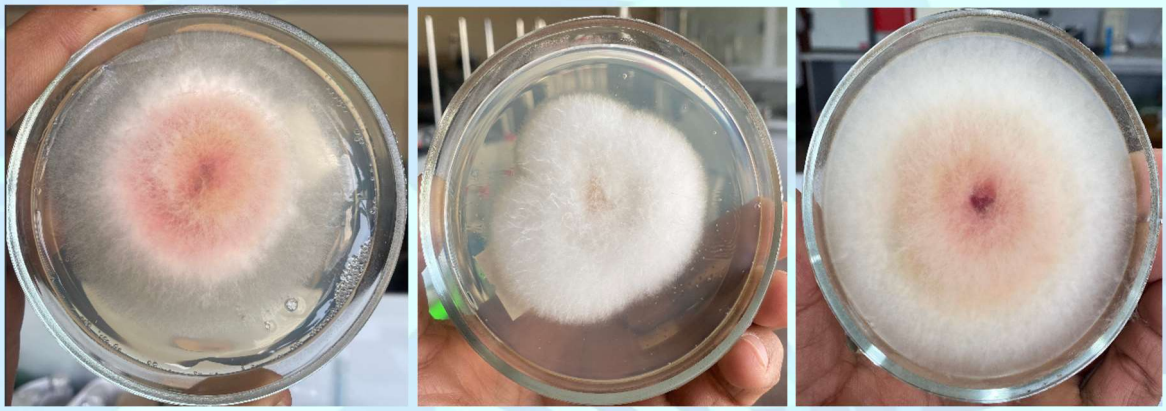
2. O‘simlik namunalarini ekish va endofitlarni ajratib olish

Sterillangan o‘simlik qismidan 5-10 mm uzunlikdagi bo‘laklar olinadi. Bo‘laklar to‘g‘ridan-to‘g‘ri bakteriyalar uchun NA (Nutrient Agar), zamburug‘lar uchun PDA (Potato Dextrose Agar) muhitlari yuzasiga joylashtiriladi. Bakteriya koloniyalari 28–30°C da 24–48 soat, zamburug‘lar esa 25–28°C da 5–7 kun davomida inkubatsiya qilinadi.

3. Izolyatlarni tozalash va saqlash

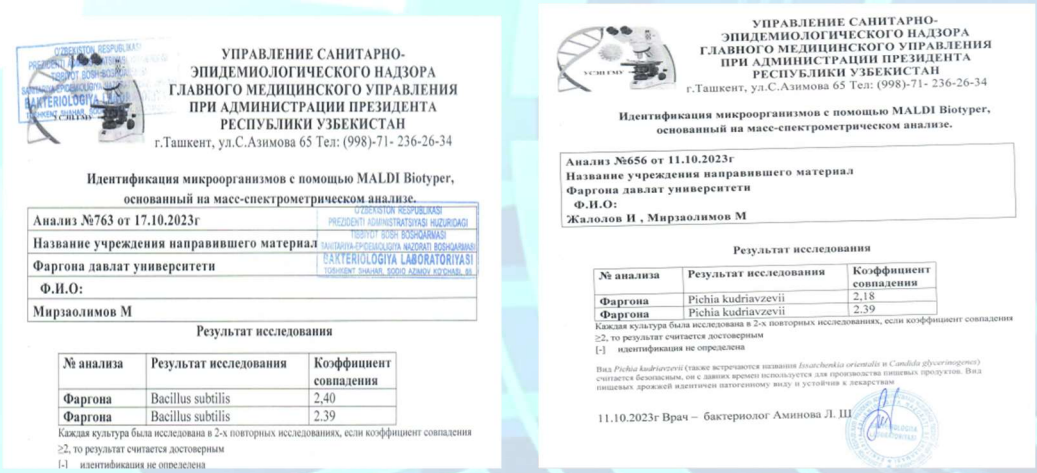
O‘sib chiqqan koloniyalar morfologik belgilari bo‘yicha tanlab olinadi va qayta 2-3 marta subkultivatsiya qilinadi. Subkultivatsiya qilinganidan so‘ng 2 ta endofit bakteriya koloniyalari va 3 ta endofit zamburug‘lari tozza holda ajratib olindi(2-rasm).

ISSN 3030-3907



2-rasm. *Arundo donax* L. o‘simligidan ajratib olingan endofit zamburug‘lar.

Arundo donax L. o‘simligining ildiz endofitlari tarkibidan Bacillus subtilis va Pichia kudriavzevii endofit bakteriyalari ajratib olindi va bu bakteriya turlari O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti huzuridagi tibbiyot bosh boshqarmasi sanitar-epidemiologik nazorat bo‘limida aniqlandi va ma’lumotnomalar olindi (3-rasm). Ajratib olingan Bacillus subtilis endofit bakteriyasi asosida kompleks ta’sirga ega “Bioarundo” preparati yaratildi. Ushbu biopreparatni qishloq ho‘jaligida o‘simliklarning turli xildagi kasalliklariga qarshi kurashuvchi va hosildorligini oshiruvchi vosita sifatida qo‘llashni tavsiya etildi.



УПРАВЛЕНИЕ САНИТАРНО-
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
ГЛАВНОГО МЕДИЦИНСКОГО УПРАВЛЕНИЯ
ПРИ АДМИНИСТРАЦИИ ПРЕЗИДЕНТА
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
г.Ташкент, ул.С.Азимова 65 Тел: (998)-71- 236-26-34

Идентификация микроорганизмов с помощью MALDI Biotyper, основанный на масс-спектрометрическом анализе.

Анализ №763 от 17.10.2023г
Название учреждения направившего материал
Фаргона давлат университети
Ф.И.О:
Мирзаолимов М

Результат исследования

№ анализа	Результат исследования	Коэффициент совпадения
Фаргона	Bacillus subtilis	2,40
Фаргона	Bacillus subtilis	2.39

Каждая культура была исследована в 2-х повторных исследованиях, если коэффициент совпадения ≥2, то результат считается достоверным
[-] идентификация не определена

УПРАВЛЕНИЕ САНИТАРНО-
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА
ГЛАВНОГО МЕДИЦИНСКОГО УПРАВЛЕНИЯ
ПРИ АДМИНИСТРАЦИИ ПРЕЗИДЕНТА
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
г.Ташкент, ул.С.Азимова 65 Тел: (998)-71- 236-26-34

Идентификация микроорганизмов с помощью MALDI Biotyper, основанный на масс-спектрометрическом анализе.

Анализ №656 от 11.10.2023г
Название учреждения направившего материал
Фаргона давлат университети
Ф.И.О:
Жалолов И , Мирзаолимов М

Результат исследования

№ анализа	Результат исследования	Коэффициент совпадения
Фаргона	Pichia kudriavzevii	2,18
Фаргона	Pichia kudriavzevii	2,39

Каждая культура была исследована в 2-х повторных исследованиях, если коэффициент совпадения ≥2, то результат считается достоверным
[-] идентификация не определена

Вид *Pichia kudriavzevii* (также встречаются названия *Issatchenkia orientalis* и *Candida glycerinogenes*) считается безопасным, он с давних времен используется для производства пищевых продуктов. Вид пищевых дрожжей идентичен патогенному виду и устойчив к лекарствам

11.10.2023г Врач – бактериолог Аминова Л. Ш

3-rasm. O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti huzuridagi tibbiyot bosh boshqarmasi sanitar-epidemiologik nazorat bo‘limidan olingan ma’lumotnomalar

XULOSA

Arundo donax L. o‘simligining ildiz, poya va barg to‘qimalaridan endofit bakteriya va zamburug‘larni ajratib olish va ularni morfologik, biokimyoviy hamda molekulyar usullar yordamida identifikatsiya qilish o‘simlikning ekologik barqarorligi va stressga chidamliligini tushunishga, shuningdek, biologik faol birikmalarni izlashga zamin yaratadi. Bu ish natijalari qishloq xo‘jaligida bioo‘g‘it,

ISSN 3030-3907

biokontrol vositalari va farmatsevtika uchun yangi istiqbolli mikroorganizmlarni aniqlash imkonini beradi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO‘YXATI

1. Yang, J.; Gong, L.Z.; Guo, M.M.; Jiang, Y.; Ding, Y.; Wang, Z.J.; Xin, X.J.; An, F.L. Bioactive Indole Diketopiperazine Alkaloids from the Marine Endophytic Fungus Aspergillus sp. YJ191021. Mar. Drugs 2021, 19, 157.
2. Xu, K.; Wei, X.L.; Xue, L.; Zhang, Z.F.; Zhang, P. Antimicrobial Meroterpenoids and Erythritol Derivatives Isolated from the Marine-Algal-Derived Endophytic Fungus Penicillium chrysogenum XNM-12. Mar. Drugs 2020, 18, 578.
3. Lutfia, L.; Munir, E.; Yurnaliza, Y.; Basyuni, M. Chemical analysis and anticancer activity of sesterterpenoid from an endophytic fungus Hypomontagnella monticulosa Zg15SU and its host Zingiber griffithii Baker. Heliyon 2021, 7, e06292.
4. Wang, Z.J.; Jiang, Y.; Xin, X.J.; An, F.L. Bioactive indole alkaloids from insect derived endophytic Aspergillus lentulus. Fitoterapia 2021, 153, 104973.
5. Wu, S.H.; Zhao, L.X.; Chen, Y.W.; Huang, R.; Miao, C.P.; Wang, J. Sesquiterpenoids from the Endophytic Fungus Trichoderma sp. PR-35 of Paeonia delavayi. Chem. Biodivers. 2011, 9, 1717–1723.
6. Jiang, C.X.; Li, J.; Zhang, J.M.; Jin, X.J.; Yu, B.; Fang, J.G.; Wu, Q.X. Isolation, Identification, and Activity Evaluation of Chemical Constituents from Soil Fungus Fusarium avenaceum SF-1502 and Endophytic Fungus Fusarium proliferatum AF-04. J. Agric. Food Chem. 2019, 67, 839–1846.
7. Hu, X.Y.; Li, X.M.; Meng, L.H.; Wang, B.G. Antioxidant bisabolane-type sesquiterpenoids from algal-derived fungus Aspergillus sydowii EN-434. J. Oceanol. Limnol. 2020, 38, 1532–1536.
8. Hu, Z.B.; Wu, Z.H.; Su, Q.H.; Li, M.Z.; Wu, S.S.; Meng, R.Q.; Ding, W.J.; Li, C.Y. Metabolites with phytopathogenic fungi inhibitory activities from the mangrove endophytic fungus Botryosphaeria ramose. Bioorg. Chem. 2020, 104, 104300.
9. Li, H.; Tian, J.M.; Tang, H.Y.; Pan, S.Y.; Zhang, A.L.; Gao, J.M. Chaetosemins A–E, new chromones isolated from an Ascomycete Chaetomium seminudum and their biological activities. RSC Adv. 2015, 37, 29185–29192.
10. Liu, S.C.; Liu, L. Isoprenylated chromones from the plant endophytic fungus Pestalotiopsis fici. Mycosystema 2011, 29, 585–587.

ISSN 3030-3907