

ODDIY SACHRATQI (CICHORIUM INTYBUS L) O`SIMLIK QISMLARIDAN ENDOFIT BAKTERIYALARNING SOF KULTURALARINI AJRATISH USULLARI**Shodiyeva Dildora G`iyosovna***SamDTU, Mikrobiologiya, virusologiya va immunologiya kafedrası amaliyotchi-assistant*

Annotatsiya: Oddiy Sachratqi (*Cichorium intybus* L) o`simlik qismlaridan endofit bakteriyalarning sof kulturalarini ajratish uslublarini tahlil qilishda dastlab o`simlik namunalari yig`ildi. O`simlikning kerakli qismlari tanlab olinib, strillandi. Ushbu namunalar asosida 18 ta izolyatlar olindi va Chapek va kartoshka glyukozali ozuqa muhitiga ekildi. Olingan izolyatlarni MALDI TOF mass-spektrometriya usulida identifikatsiya qilish natijasida, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* borligi aniqlandi. 18 ta izolyatdan 9 tasida aniqlanib, *Bacillus thuringiensis* shtammi dominantlik qilganligi sababli, ushbu shtamning fitopatogen mikroorganizmlarga nisbatan antagonistik xususiyatini aniqlash ustida keyingi ishlar davom ettirildi.

Kalit so`zlar: *Cichorium intybus*, MALDI TOF mass-spektrometriya, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, dominant shtam.

Аннотация: Сначала собирали образцы растений при анализе методов выделения чистых культур эндофитных бактерий из частей растений *Cichorium intybus* L. Отбирали и стерилизовали необходимые части растения. На основе этих образцов было получено 18 изолятов, которые культивировали на среде Чапека и картофельной глюкозе. В результате идентификации полученных изолятов методом масс-спектрометрии MALDI TOF установлено присутствие *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*. Поскольку штамм *Bacillus thuringiensis* был доминирующим в 9 из 18 изолятов, была продолжена работа по определению антагонистических свойств этого штамма по отношению к фитопатогенным микроорганизмам.

Ключевые слова: *Cichorium intybus*, масс-спектрометрия MALDI TOF, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, доминирующий штамм.

Abstract: First, plant samples were collected in the analysis of methods for isolating pure cultures of endophytic bacteria from plant parts of *Cichorium intybus* L. The necessary plant parts were selected and sterilized. Based on these samples, 18 isolates were obtained, which were cultured on Czapek's medium and potato glucose. As a result of the identification of the obtained isolates by MALDI TOF mass spectrometry, the presence of *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* was established. Since the strain of *Bacillus thuringiensis* was dominant in 9 out of 18 isolates, work was continued to determine the antagonistic properties of this strain in relation to phytopathogenic microorganisms.

Keywords: *Cichorium intybus*, MALDI TOF mass spectrometry, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, dominant strain.

KIRISH

O`simlik materiallarining ichki to`qimalarida endofitlarning joylashishi yetishtirishni cheklash mumkin, ammo ba`zilari o`simlik to`qimalarining tashqarisida o`shishi uchun imkon yaratadi. Ajratish uchun ikkita an`anaviy usuldan foydalanildi. 1. O`simlik to`qimalaridan ikkala turdan endofitik mikroblar yetishtirishdan mustaqil (to`g`ridan-to`g`ri kuzatish) bu usul ichki tuzilmalarni bevosita mikroskopik kuzatishni endofitlar o`z ichiga oladi. Kultivatsiyaga bog`liq usul turli xil yuvish protokollariga rioya qilishni o`z ichiga oladi o`simlik moddasining qoldiqlarini olib tashlash va oxir- oqibat bitta koloniyalarni olish uchun morfologik xususiyatlariga ko`ra ushbu izolyatlarni aniqlash mumkin.

O`simlik namunalari izolyatlarini strill sharoitga qo`yganimizdan so`ng ularni ekish uchun kerakli ozuqa muhitlarini tayyorladik. Bunda ozuqa muhitini turli ozuqa muhitni tanlab oldik, chunki ozuqa muhitlarida o`shish va unib chiqishi potensialini o`rganimiz mumkin, bundan tashqari turli muhitda ularni boshqa xossalarni ham ko`rish mumkin.

Ishning maqsadi va vazifalari:

Tadqiqot ishing asosiy maqsadi oddiy sachratqi (*Cichorium intybus* L) o`simlik qismlaridan endofit bakteriyalarning sof kulturalarini ajratish uslublarini o`rganish va eng maqbul usulni tanlab olish.

MAVZU YUZASIDAN ADABIYOTLAR TAHLILI

Oddiy sachratqi ko`p yillik yoki ikki yillik o`simlik sifatida ekib o`stiriladi. Poyasi to`g`ri, yashil, bo`yi 15-150smgacha yetadigan o`simlik. Murakkab guldoshlar oilasiga mansub o`simlik. Barglari ketma-ket joylashgan. Gullari havorang, barg qo`ltiqlarida kalta gulbandda tup-tup bo`lib, poya uchida esa yakka savatchasimon to`pgulga yig`ilgan. Ildizi o`q ildiz, tuproqqa 1,5 m chuqurgacha kiradi. Urug`lari yordamida ko`paytiriladi. Yengil unumdor tuproqlarda yaxshi rivojlanadi. Urug`lari chuqurligi 2,5sm qilib ekiladi, orasi 45sm dan 60smgacha masofa qoldiriladi. Urug`lari tez rivojlanadi odatda 7kun, bo`lmasa 10 kunda yer yuziga chiqadi. Odatda 1 qatorda 15ta o`simlik qoldiriladi. Yovvoyi zararkunandalar sachratqi o`simligini yeb o`simlikka ziyon yetkazadi shuning uchun uni zararkunandalardan extiyot qilish kerak. Birinchi yili o`simlik gullamaydi, faqat barg to`plami shakllanadi lekin ildiz xomashyosini kuzda tayyorlash mumkin. Tarixan olganda sachratqi nomi bilan mashhur bo`lgan bu o`simlikning ildizi tarkibida 40 foizgacha inilun borligi aniqlandi [49]. *Cichorium intybus* so`zining lug`aviy ma`nosi esa "Cichoriu" dala maydon degan ma`nolarni beradi va "intybus" esa kesmoq degan ma`noni anglatadi. Yer yuzida tarqalgan turlar tarkibi sifatida *Cichorium intybus*dan tashqari, *Cichorium balearicum* Porta, *Cichorium byzantinum* Clementi, *Cichorium caeruleum* Gilib, *Cichorium cicorea* Dumort, *Cichorium commune* Pall, *Cichorium cosnia* Buch.-Ham, *Cichorium divaricatum* Heldr. ex Nyman, *Cichorium glabratum* C.Presl, *Cichorium glaucum* Hoffmanns. Link, *Cichorium hirsutum*

Gren, Cichorium illyricum borb, Cichorium officinale Gueldenst.Ledeb, Cichorium perenne Stokes, Cichorium rigidum Salisb., Cichorium spinosum Salisb, Cichorium sylvestre Garsault, Cichorium sylvestre Lam kabi bir qancha turlarni ko`rish mumkin.

1- jadval Cichorium intybusdan endofit mikroorganizmlar ajratib olish uchun foydalanilgan ozuqa muhitlariga quyidagilar kiradi:

F+

№	Chopqek-ozuqa muhiti tarkibi	Miqdori	PDA	Miqdori
1	MgSO ₄ 7H ₂ O	0,5 gr	Kartoshka solodi	200,00 gr
2	KCl	0,5 gr	Glyukoza	20,00 gr
3	NaN ₃	0,2 gr	Agar	15,00 gr
4	K ₂ HPO ₄	1,0 gr	-	-
5	FeSO ₄	0,01 gr	-	-
6	Samarqand	30,0 gr	-	-
7	Agar	15,0 gr	-	-
8	Distillangan suv	1 litr	-	-

glyukozali agar (PDA) ozuqa muhiti tarkibi:1. Kartoshka solodi – 200,00 gr 2. Glyukoza – 20,00 gr 3. Agar-agar – 15,00 gr pH-5,6 optimal harorat 25 C

Tayyorlanishi: 39,00 gr paroshokni 100 ml distillangan suvga solib, qizitib, avtoklavda 1,1 atmda 121 C da 15 minut davomida sterilizatsiya qilinadi. So`ng pH 3,5 bo`lishi uchun unga 10 foizli vino kislota qo`shiladi (1 ml kislota 100 ml ozuqa muhitiga qo`shiladi), vino kislotasi qo`shilgach qizdirish mumkin emas.

METODOLOGIYA

Tadqiqot ishini amalga oshirishda mavzu yuzasidan barcha elektron hamda yozma manbalar o`rganildi ularning yutuq va kamchiliklari tahlil qilindi shu bilan birga tadqiqot amaliy qismida biotexnologik, mikrobiologik, botanik va statistik tahlil usullaridan foydalanildi.

Tadqiqotlar o`simlik namunalari yig`ishdan boshlandi. Bunda Cichorium intybus o`simligi Samarqand hududidan ajratib olindi. Samarqandning uchta tumani Pstdarg`om va Nurobod tumanlaridan Cichorium intybusning namunalari yig`ib olindi. Ushbu tumanlarning maydoni, turlar xilma-xilligi katta bo`lganligi sababli bu hududlarning maydonidan Cichorium intybuslar olindi. Cichorium intybusning endofit mikroorganizmlarini o`rganish maqsadida, ular o`sha kuniyoq O`zbekiston Fanlar Akademiyasi qoshidagi mikrobiologiya institutiga olib kelindi. Olib kelingach ular sterill sharoitida tozalandi. Bunda srtrillash uchun turli usullardan foydalanildi. Bunda 70 % li etanol spirtida 15 daqiqa ushlab turiladi. so`ng distillangan suvda 3 marta yuviladi. Vodород peroksidning 6 % li eritmasida 3 minut ushlab turiladi. so`ng distillangan suvda 3 marta yuviladi. Aseptomatik barglar va dorivor o`simlikning shoxlaridan (Cichorium intybus) tasodifiy namunalar to`plandi. Endofitik bakteriyalarni ajratib olish uchun o`simliklarning dezinfektsiyalangan qismlari izolyatsiya vositalariga tarqatildi. Endofitik bakteriya tarkibini

o'rganish uchun biomassalarlar PDA va Chapakada o'sib borayotgan koloniyalar yordamida ularni xloroform bilan inaktivatsiya qilish orqali o'tkazildi. Endofitik bakterial kultura bulonining antibakterial faolligini tekshirish uchun filtr bilan sterillangan supernatantlar har bir bakterial plastinka ustidagi silindrlarga quyiladi.

NATIJA MUHOKAMA

O`simlikning 17 ta izolyatlari olindi.

2-jadval. Izolyatlarning dastlabki morfologik belgilari

№	Izolyatlar	Qirralari	Uchbani
1	1A	Streak	Kichik
2	1B	Streak	Kichik
3	2A	Teke	Kichik
4	2B	Teke	Uchbani
5	3A	Streak	Kichik
6	3B	Teke	Kichik
7	4A	Streak	Kichik
8	4B	Streak	Uchbani
9	5A	Teke	Kichik
10	5B	Streak	Uchbani
11	6A	Streak	Kichik
12	6B	Teke	Uchbani
13	7A	Streak	Kichik
14	7B	Streak	Kichik
15	8A	Teke	Uchbani
16	8B	Streak	Kichik
17	9A	Streak	Kichik
18	9B	Streak	Kichik

Izolyatlar qayta ekish orqali sof kulturalarga aylantirildi.

Ushbu muhitlarga izolyatlarni ekib, qayta ekish orqali sof kulturalar olindi. So`ngra ularni identifikatsiyalash orqali Bacillus avlodiga mansub Bacillus cereus, Bacillus pumilis, Bacillus thuringiensislar borligi aniqlandi.

3-jadval izolyatlarni morfologik tuzilish natijalari.

No	Ishtirokchi	Gram usulida bo'yash natijasi	Shakli	Ertaqi
1	1A	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
2	1B	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
3	2A	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
4	2B	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
5	3A	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
6	3B	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
7	4A	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
8	4B	Gaushta	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
8	5A	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
9	5B	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
10	6A	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
11	6B	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
12	7A	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq

13	7B	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
14	8A	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
15	8B	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
16	9A	Musht	Tayaychasiroq	Oq-siyanoq
17	9B	Musht	Soyuq	Oq-siyanoq

Morfologik xususiyatlarini talqiq qilib davomida ishlatib mikrobiologiyada umum qabul qilingan usulda (Paktikum po mikrobiologii), bakteriyalar aniqlogichi (Opredelitel bakteriy Besji, 1997) va MALDI TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time Of Flight) mass-spektrometriya usullari bo'yicha identifikatsiyalandi.

4-jadval. Ajratib olingan ishlabchinar MALDI-TOF MS usulida identifikatsiyalash

No	Ajratib olingan bakteriya ishlyalari	MALDI-TOF MS usulida identifikatsiyalash natijasi
1	1A	<i>Bacillus thuringiensis</i>
2	1B	<i>Bacillus cereus</i>
3	2A	<i>Bacillus cereus</i>
4	2B	<i>Bacillus pasteurii</i>
5	3A	<i>Bacillus cereus</i>

6	3B	<i>Bacillus thuringiensis</i>
7	4A	<i>Bacillus cereus</i>
8	4B	<i>Bacillus pumilus</i>
9	5A	<i>Bacillus thuringiensis</i>
10	5B	<i>Bacillus thuringiensis</i>
11	6A	<i>Bacillus thuringiensis</i>
12	6B	<i>Bacillus cereus</i>
13	7A	<i>Bacillus thuringiensis</i>
14	7B	<i>Bacillus thuringiensis</i>
15	8A	<i>Bacillus cereus</i>
16	8B	<i>Bacillus thuringiensis</i>
17	7A	<i>Bacillus pumilus</i>
18	7B	<i>Bacillus thuringiensis</i>

XULOSA

Cichorium intybus o'simligi Samarqandning ikkita yirik tumanlari Pastrodarg'om va Nurobod tumalaridan yig'ilganlarini va ularni mikrobiom tahlili yoritilgan. Ushbu namunalar asosida 18 ta izolyatlar olindi va Chapek va kartoshka glyukozali ozuqa muhitiga ekilgani va olingan kulturaning morfologik tahlili jadval asosida ifodalangan va identifikatsiya natijasi o'z ifodasini topgan. Olingan izolyatlarni MALDI TOF mass-spektrometriya usulida identifikatsiya qilish natijasida, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* borligi aniqlandi. Mikrobiologiyada umumiy qabul qilingan klassik usullar yordamida identifikatsiya qilindi. Olingan izolyatlar asosida *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus* borligi aniqlandi. Ko'rinib turibdiki, 18 ta izolyatdan 9 tasida aniqlanib, *Bacillus thuringiensis* shtammi dominantlik qilganligi sababli, ushbu shtammning fitopatogen mikroorganizmlarga nisbatan antagonistik xususiyatini aniqlash ustida keyingi ishlar davom ettirildi.

REFERENCES:

1. D. Wilson, "Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition," *Oikos*, vol. 73, no. 2, pp. 274–276, 1995.
2. Sharma, S.; Tandon, S.; Semwal, B.; Singh, K. *Momordica charantia* Linn: A comprehensive review on bitter remedy. *J. Pharm. Sci. Opin.* 2011, 1, 42–47.
3. Pretty, J., and Bharucha, Z.P. 2015. Integrated Pest Management for Sustainable Intensification of Agriculture in Asia and Africa. *Insects*, 6: 152-182.
4. O'simlik o'sishi va rivojlanishida foydali mikroorganizmlarning ahamiyati

Annayeva D.G` Davronov Q.D Azzamov U.A «TABIY FANLARNING DOLZARB MASALALARI» mavzusidagi III-xalqaro ilmiy-nazariy anjuman materiallari TO'PLAMI 12 may, 2022 y. I – bo'lim 125-127 b

5. Cichorium intybusdan olingan Bacillus avlodiga mansub bakteriyalarning biotexnologik potentsiali va mikrobiologiyadagi istiqbollari Annayeva D.G`,2(6), 54–61. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6622491>

6. XLAMIDIYANING INSON SALOMATLIGIGA TA'SIRINI MIKROBIOLOGIK TAHLILLI VA DIOGNOSTIKASI Azzamov Ulug'bek Azimovich Shodiyeva Dildora G'iyosovna. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7305057>