



UDK:631.8:632.9:579.64

**Moxichehra SHOXIDDINOVA,**

*O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiologiya va biotexnologiya kafedrasida o'qituvchisi*

*E-mail: shoxiddinovamoxichehra@gmail*

**Mujassam AXMEDOVA,**

*O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiologiya va virusologiya mutahassisligi 1-bosqich magistranti*

**Nozima YUSUFDJANOVA,**

*O'zMU Biologiya fakulteti 2-bosqich talabasi*

**Behro'z TOJIYEV,**

*O'zR FA Mikrobiologiya instituti tayanch doktoranti*

**Moxichehra PATTAYEVA,**

*O'zRFA Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti katta ilmiy xodim, PhD*

**Qunduz NORMURODOVA,**

*O'zMU Biologiya fakulteti Mikrobiologiya va biotexnologiya kafedrasida prof.v.b. B.f.d.*

### ANTAGONIST AND ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF THE BACTERIAL STRAIN BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS –UZMU 22

Annotation

A total of 8 endophytic isolates were isolated from the root of the medicinal plant *Kalanchoe degremona*, 3 from the stem and 3 from the leaves. As a result of the screening, isolate K7, isolated from *Kalanchoe degremona*, was isolated and identified by MALDI TOF mass spectrometry. The isolated bacterial isolate K7 was identified as *B. amyloliquefaciens* and named *B. amyloliquefaciens* - strain UzMU 22. The antagonistic activity of the *Bacillus amyloliquefaciens* strain - UzMU 22 was determined against such pathogenic fungi as *Verticillium dahliae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*, sensitivity to a number of antibiotics, such as kanamycin, erythromycin, cefotaxim, ciprofloxacin, gentamicin and lencomycin, as well as the activity of hydrolytic enzymes.

**Key words.** endophytes, phytohormone, biological active substances, microorganisms, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Kalanchoe degremona*, bacteria.

### АНТАГОНИСТНЫЕ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИАЛЬНОГО ШТАММА BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS –UZMU 22

Аннотация

Всего из корня лекарственного растения *Каланхоэ дегремона* выделено 8 эндофитных изолятов, 3 из стебля и 3 из листьев. В результате скрининга был выделен изолят К7, выделенный из *Kalanchoe degremona*, и идентифицирован методом масс-спектрометрии MALDI TOF. Выделенный бактериальный изолят К7 был идентифицирован как *B. amyloliquefaciens* и назван *B. amyloliquefaciens* - штамм UzMU 22. Определена антигонистическая активность штамма *Bacillus amyloliquefaciens* - UzMU 22 в отношении таких патогенных грибов, как *Verticillium dahliae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* и *Fusarium oxysporum*, чувствительность к ряду антибиотиков, таких как канамицин, эритромицин, цефотоксин, цефпрофлоксацин, гентамицин и ленокмицин, а также активность гидролитических ферментов.

**Ключевые слова:** антогонист, антибиотик, эндофит, микроорганизм, изолят, *Bacillus amyloliquefaciens*, штамм, фитогормон, *Kalanchoe degremona*, бактерия, фермент.

### BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS –UZMU 22 BAKTERIYA SHTAMMINING ANTOGONISTIK VA ANTIBAKTERIAL XUSUSIYATLARI

Annotatsiya

*Kalanxoye degremona* dorivor o'simligining ildizidan 2ta, poyasidan 3ta va bargidan 3ta jami 8ta endofit izolyatlar ajratib olindi. Skrining natijasida *Kalanxoye degremonadan* ajratib olingan K7 izolyati tanlab olindi va MALDI TOF mass-spektrometriya usuli yordamida identifikatsiya qilindi. Tanlab olingan K7 bakteriya izolyati *B. amyloliquefaciens* ekanligi aniqlandi va *B. amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtammi deb nomlandi. *Bacillus amyloliquefaciens* - UzMU 22 shtammining *Verticillium dahliae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum* kabi patogen zamburug'larga nisbatan antogonistik faolligi, kanamitsin, eritromitsin, sefotoksin, seprofloksatsin, gentamitsin va lenkomitsin kabi bir nechta antibiotiklarga sezgirligi va gidrolitik fermentlar faolligi aniqlandi.

**Kalit so'zlar.** antogonist, antibiotik, endofit, biologik faol moddalar, mikroorganizm, izolyat, *Bacillus amyloliquefaciens*, shtamm, *Kalanchoe degremona*, bakteriya.

**Kirish.** Ma'lumki, bugungi kunda qishloq xo'jaligini biologik himoya qilishda biofaol ikkilamchi metabolitlar sintezlovchi endofit bakteriyalarning tirik kulturalari asosidagi biologik preparatlar, qolaversa turli xil gidrolitik ferment preparatlari va probiotiklar olishda ham keng qo'llanilmoqda [1-7]. Ayniqsa, dorivor o'simliklardan ajratilgan endofit bakteriya izolyatlarini qo'llash orqali o'simliklarning oziqlanishini yaxshilash, ularni har xil fitopatogenlardan himoya qilish, tuproq unumdorligi va qishloq xo'jalik ekinlarining hosildorligini oshirish, urug'larni unib chiqishi va o'sishini jadallantirish uchun biologik preparatlar yaratish va ularni qishloq xo'jaligida keng foydalanish mumkin [4-5]. Shu bilan birga, normal ichak florasini har xil kasalliklar keltirib chiqaruvchi patogen bakteriyalar va zamburug'larlardan himoya qilishda to'sqinlik qiladigan, vitamin

K va vitamin V guruhiga kiruvchi bir necha vitaminlar sintezida ishtirok etadigan, antibiotik, noto'g'ri ovqatlanish, kimyoviy preparatlar, har xil infeksiya yuqishi sababli organizmning kuchsizlanib ketishi natijasida shartli patogen mikroblar ko'payib dizbakterioz kelib chiqishini oldini olishda qo'llaniladigan va organizm uchun foydali bo'lgan tirik bakteriyalar tutuvchi probiotik preparatlar asosida muhim o'rin egallaydi [2-4].

Hozirgi vaqtda, ko'plab dorivor o'simliklardan ikkilamchi metabolitlar sintezlovchi endofit mikroorganizmlarni ajratish va ularni qishloq xo'jaligi, farmatsevtika va tibbiyot sohaslarida ham keng qo'llash mumkin [3-5]. Bundan oldingi tadqiqotlarimizda, dala va uy sharoitlarida uchraydigan, farmokopeya ro'yxatiga kiritilgan zubtutum, dalachoy, moychechak, sachratqi, kalanxoye, limono't, yalpiz kabi dorivor o'simliklarning ildizi, poyasi va barglarini ichki to'qimalaridan jami 45 ta bakteriya izolyatlari ajratib olingan. Ajratib olingan endofit bakteriya izolyatlari 1%li kazein va 1%li kraxmalga nisbatan moyillik darajalari va gidroliz zonalari, rangi, shaffofligi, koloniyalarning chekkasi va yuza qismlari kabi kultural-morfologik xususiyatlari o'rganilgan [5-7].

**Ishtirok maqsadi:** *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 bakteriya shtamining antogonistik va antibakterial xususiyatlarini tahlil qilishdan iborat.

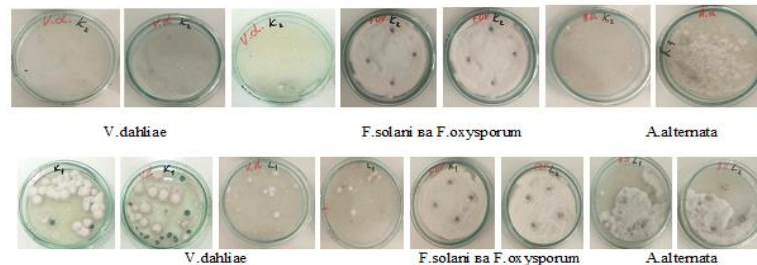
**Tadqiqotlar va usullar.** *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamini antogonistik xususiyati va antibiotiklarga nisbatan sezgirligi klassik mikrobiologik usullar orqali aniqlandi. MALDI TOF mass-spektrometriya usuli yordamida K7 izolyati identifikatsiya qilingan natijada *B. amyloliquefaciens* ekanligi aniqlangan va *B. amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamini deb nomlangan. *Bacillus amyloliquefaciens* - UzMU 22 shtamining ayrim patogen zamburug'larga nisbatan antogonistik faolligi, bir nechta antibiotiklarga sezgirligi va fermentlar faolligi aniqlandi.

**Olingan natijalar va ularning tahlili.** Ma'lumki, dorivor o'simliklardan ikkilamchi metabolitlar sintezlovchi endofit bakteriyalarni ajratib olish va ularning fitopatogen zamburug'larga qarshi antogonistik xususiyatlari va turli xil antibiotiklarga sezgirligini aniqlash, shuningdek mono-yoki aralash kulturalari assotsiatsiyasi asosida biologik preparatlarning yangi avlodini yaratib, ulardan qishloq xo'jaligida keng foydalanish imkoniyatlari amalga oshirilmoqda [7-9].

Yuqorida keltirilgan fikrlarni inobatga olgan holda, dorivor o'simliklardan biri bo'lgan Kalanxoye degremonadan ajratib olingan K7 izolyati MALDI TOF mass-spektrometriya usuli yordamida K7 izolyati identifikatsiya qilindi. Natijaga ko'ra, K7 bakteriya izolyati *B. amyloliquefaciens* ekanligi aniqlandi va keyingi tadqiqotlarimizda K7 izolyati *B. amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamini deb hisoblandi.

Navbatdagi tadqiqotimiz, o'simliklarni har xil fitopatogenlardan himoya qilish, tuproq unumdorligini oshirish, yuqori antifungal faollikga ega, urug'larni unib chiqishi va o'sishini jadallantiruvchi kabi xususiyatlari bo'yicha qishloq xo'jaligi uchun zarur bo'lgan biologik preparatlar yaratish maqsadida ikkilamchi metabolitlar sintezlovchi endofit bakteriyalarning yuqori faollikga ega mahalliy shtammlarini dorivor o'simliklardan ajratib olish, ularning antifungal va ferment sintezlash kabi qobiliyatlarini o'rganish, shu bilan birga amaliyotga joriy etish ilmiy va amaliy jihatdan dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi.

Shunga ko'ra, Kalanxoye degremona (K1 va K7) va Limono't (*Melissa officinalis L.*) dan ajratilgan L1 va L2 izolyatlarining *Verticillium dahliae*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum* kabi fitopatogenlarga nisbatan antogonistik xususiyati o'rganildi (1 rasm).

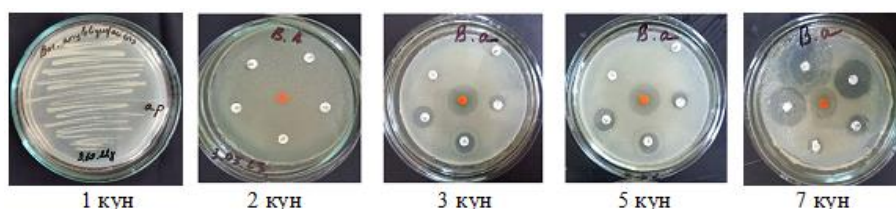


**1-Rasm. Kalanxoye degremona va Limono't (*Melissa officinalis L.*) dan ajratilgan izolyatlarning ayrim fitopatogenlarga nisbatan antogonistik xususiyati**

Rasmdan ko'rinib turibdiki, Kalanxoye degremonadan ajratib olingan izolyatlardan biri, ya'ni K7 izolyati boshqa dorivor o'simliklardan ajratib olingan K1, L1 va L2 izolyatlariga qaraganda qishloq xo'jaligiga katta zarar yetkazadigan bir qator *Verticillium dahliae*, *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum* kabi fitopatogen zamburug'larga nisbatan, ayniqsa *Alternaria alternata* patogen zamburug'iga ham antogonistik xususiyati yuqori faol ekanligi aniqlandi. Xususan, K7 izolyatining *Verticillium dahliae* patogen zamburug'iga nisbatan yuqori antogonistik xususiyati shuni ko'rsatadiki, ushbu shtamdan qishloq xo'jaligida patogen zamburug'larga qarshi kurashishda keng foydalanish mumkin.

Navbatdagi tadqiqotimiz, Kalanxoye degremonadan ajratib olingan va skrining natijasida tanlab olingan izolyatlardan biri K7 izolyati MALDI TOF mass-spektrometriya usuli yordamida identifikatsiya qilindi. Olingan natijaga ko'ra, K7 bakteriya izolyati *B. amyloliquefaciens* ekanligi aniqlandi va keyingi tadqiqotlar uchun *B. amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamini deb belgilandi.

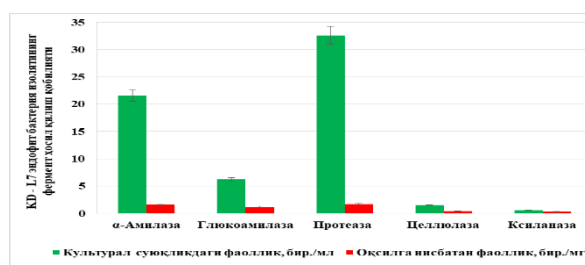
Yuqoridagi fikrlarni inobatga olgan holda, keyingi tadqiqotimiz, *Bacillus amyloliquefaciens* - UzMU 22 shtamining ayrim patogen zamburug'larga nisbatan antogonistik faolligi, bir nechta antibiotiklarga sezgirligi va fermentlar faolligi aniqlashga qaratildi. Unga ko'ra, *B. amyloliquefaciens* – UzMU 22 bakteriya shtamini kanamitsin, eritromitsin, sefotoksirin, seprofloksatsin, gentamitsin va lenkomitsin kabi antibiotiklarga nisbatan sezgirligi vaqtga (1, 2, 3, 5, 7 kunlar oralig'i) nisbatan aniqlandi (2-rasm).



2-Rasm. *B. amyloliquefaciens* – UzMU 22 bakteriya shtammini turli xil antibiotiklarga nisbatan sezgirligi

Demak, *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamming kanamitsin, eritromitsin, sefotoksin, seprofloksatsin, gentamitsin va lenkomitsin kabi antibiotiklarga nisbatan sezgirligini o'rganish shuni ko'rsatdiki, 1chi kunda ushbu kultura barcha antibiotiklarga nisbatan o'zining chidamlilik qobiliyatini ko'rsatdi. Tadqiqotning 3 va 5chi kunlarida kanamitsin va eritromitsinga sezgirligi kuzatilgan bo'lsa, 7chi kunlari kanamitsin, eritromitsin va gentamitsinlarga sezgirligi yuqori ekanligini ko'rsatdi. Olingan natijalarni xulosa qiladigan bo'lsak, *Kalanchoe degremona* dorivor o'simligidan ajratib olingan *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtammidan immunitetni oshiruvchi biologik faol qo'shimcha va yallig'lanishga qarshi yuqori faollikga ega mahalliy shtamm sifatida tavsiya qilish mumkin.

Ma'lumki, ko'plab bakteriya kulturalari faol gidrolitik fermentlar sekretsiyalashi va faol produtsentlari bo'ladi. Shuning uchun ham, qishloq xo'jaligi, oziq-ovqat sanoatlarida, qolaversa farmatsevtik ferment ishlab chiqarish jarayonlarida faol shtamlarni tanlash va ulardan ishlab chiqarishda foydalanish muhim omillardan biri hisoblanadi. Shunga ko'ra, *Kalanchoe degremona* o'simligidan ajratib olingan va identifikatsiya natijasiga ko'ra *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtammi deb nomlangan, yuqori antifungal faollikga ega ushbu shtamming kultural suyuqligida (KS)  $\alpha$ -amilaza, proteaza, glyukoamilaza, sellyulaza va ksilanaza kabi asosiy gidrolitik fermentlar hosil qilish qobiliyati va oqsil miqdori aniqlandi (3-rasm).



3-rasm. *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamming ferment hosil qilish qobiliyati

Rasmdan ko'rinib turibdiki, *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtammi asosan proteaza va  $\alpha$ -amilaza gidrolitik fermentlarining produtsenti ekanligi aniqlandi. Bunda, *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 bakteriya shtamming ferment hosil qilish qobiliyatiga ko'ra,  $\alpha$ -amilaza faolligi 21,6 bir./mlni, oqsilga nisbatan faolligi esa 1,6 bir./mgni tashkil qilgan bo'lsa, proteaza faolligi 33,2 bir./mlni va oqsilga nisbatan faolligi 1,7 bir./mgni, glyukoamilaza faolligi 6,2 bir./mlni va oqsilga nisbatan faolligi 1,2 bir./mgni, sellyulaza faolligi 1,5 bir./mlni va oqsilga nisbatan faolligi 0,4 bir./mgni, ksilanaza faolligi 0,6 bir./mlni va oqsilga nisbatan faolligi esa 0,32 bir./mgni ko'rsatdi. Demak, *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 bakteriya shtammi gidrolitik fermentlardan glyukoamilaza, sellyulaza va ksilanaza fermentlariga qaraganda, proteaza va  $\alpha$ -amilaza fermentlarini ko'proq sintezlashi aniqlandi. Bu ham ushbu faol mahalliy shtammi qishloq xo'jaligi, oziq-ovqat sanoatlarida, qolaversa farmatsevtik ferment ishlab chiqarish jarayonlarida foydalanish imkoniyatini beradi.

Yuqorida keltirilgan natijalardan xulosa qilinadigan bo'lsa, *Kalanchoe degremona* dorivor o'simligidan ajratib olingan *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 mahalliy bakteriya shtammi *Verticillium dahliae*, *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum* kabi fitopatogen zamburug'larga nisbatan, ayniqsa *Alternaria alternata* patogen zamburug'iga nisbatan kuchli antagonistik xususiyatini namoyon qilgan bo'lsa, kanamitsin, eritromitsin va gentamitsin kabi antibiotiklar sezgirligi yuqori ekanligini ko'rsatdi. *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtamming ferment hosil qilish qobiliyatiga ko'ra, glyukoamilaza, sellyulaza va ksilanaza fermentlariga qaraganda,  $\alpha$ -amilaza faolligi 21,6 bir./mlni, oqsilga nisbatan faolligi esa 1,6 bir./mgni tashkil qilgan bo'lsa, proteaza faolligi 33,2 bir./mlni va oqsilga nisbatan faolligi 1,7 bir./mgni yuqori faolligini namoyon qilishi aniqlan.

Shunday qilib, antibiotikga sezgirligi, antifungal xususiyati va turli xil gidrolitik fermentlarni sintezlash qobiliyatiga ko'ra *Bacillus amyloliquefaciens* – UzMU 22 shtammini ikkilamchi metabolitlar sintezlovchi, immunitetni oshiruvchi biologik faol qo'shimcha, yallig'lanishga qarshi yuqori faollikga ega, yuqori antifungal xususiyati, gidrolitik fermentlar sintezlash kabi qobiliyatlari bo'yicha olingan natijalarni inobatga olib, qishloq xo'jaligini biologik himoya qilish, ularning hosildorligi va tuproq unumdorligini oshirish, o'simliklarning oziqlanishini yaxshilash, ularni har xil fitopatogenlardan himoya qilish, urug'larning unib chiqishi va o'sishini jadallantirish jarayonlarida mahalliy shtamm sifatida tavsiya qilish mumkin.

#### ADABIYOTLAR

1. Normurodova K.T., Nurmatov Sh.Kh., Alimova B.Kh., Akhmedova Z.R., Makhsumkhanov, A.A. Isolation and characteristics of highly active  $\alpha$ -amylase from *Bacillus subtilis*-150 // Chemistry of Natural Compoundsthis, 2007, 43(4), P. 454–457. (Research Gate, IF- 0.33).
2. Normurodova K.T., Makhsumkhanov A.A., Alimova B.Kh., Pulatova O.M., Bozorov N.I. Isolation, purification and characterization of highly active protease from *Bacillus subtilis*-150 // Chemistry of Natural Compounds. –Vol. 46, №5. 2010. – P. 833-834. (Research Gate, IF- 0.33).
3. Normurodova K.T., Abdusamatov S.A. Extraction of glucoamylase enzyme from *Aspergillus oryzae* UzMU K-14 fungal strain // "UzMU news" journal. - Tashkent, 2017. №3/2. – P. 114-116.

4. Нормуродова Қ.Т., Шохиддинова М.Н. Эндофит бактерияларининг қишлоқ хўжалигидаги истиқболлари // “ЎзМУ хабарлари” журнали. - Тошкент, 2020. №3/2. – Б. 108-112.
5. 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 и овощных культур // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51 - № 3. – С. 335–342.
6. Normurodova K.T., Shoxiddinova M.N. Introduction of endophytic bacteria of plants and study of their morphological and cultural properties // The American Journal of Horticulture and Floriculture Research, 2021, 03 (12-02), P. 4-9. (Impact Factor – 5.731).
7. Shoxiddinova M.N., Tojeyev B.B., Tojiyeva M.B. Search and isolation of endophytic bacteria from medicinal plants and determination of their morphological and cultural properties // Eurasian Journal of Research, Development and Innovation, 2021, 3, P. 23-25. (Impact Factor – 7.892).