TURLI TUPROQ NAMUNALARDAN BAKTERIYALARNI AJRATIB OLISH USULLARI VA TUPROQ BAKTERIYALARINI EKISH METODIKASI

Rayimberdiyeva Sanobar Ilhom qizi
QarDU
sanobarrayimberdiyeva958@gmail.com

Annotatsiya. *Mazkur tatqiqotda Qashqadaryo viloyati Koson tumani hududidan olingan tuproq namunasida uchraydigan ajratib olish hamda ularning mikroorganizmlarga ta'sir etish jarayoni yoritilgan.Tatqiqot davomida 20 ta bakteriyal izolyat tanlab olinib, ularni Staphulococcus aureus, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis ga nisbatan antagonistik xususiyatlari tekshirildi. Olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, izolyatlarning 11 tasida S.aereus ning o'sishini to'xtatish xususiyati kuzatildi. Bu izolyatlarda o'sishni cheklash zonasi 15 mm dan 30 mm gacha bo'ldi.Qolgan 9 ta izolyatlarda esa mazkur mikroorganizmga nisbatan ko'rinarli ta'sir aniqlanmadi. Boshqa sinov mikroorganizmlariga qarshi ham tekshirilgan sharoitda antagonistik faollik natija bermadi.Tatqiqot natijalari tuproqdan ajratilgan ba'zi bakteriyalarning mikroorganizamlarni o'sishini cheklash xususiyati mavjud bo'lib, ularni kelgusida identifikatsiya qilish hamda biologik xususiyatlarini kengroq o'rganish uchun dastlabki ilmiy asos yaratildi.*

Kalit so'zlar: *tuproq bakteriyalari, bakterial izolyat, antagonistik faollik, inhibisiya zonasi, test mikroorganizmlari, chuqurchali usuli, biotexnologik potensial.*

Abstract. *This study describes the isolation of bacteria from a soil sample collected in Koson district, Kashkadarya region, and the investigation of their effects on test microorganisms. During the study, 20 bacterial isolates were selected and their antagonistic properties against Staphylococcus aureus, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, and Basillus subtilis were examined. The results showed that 11 of the isolates exhibited the ability to inhibit the growth of S. aureus. The growth inhibition zones produced by these isolates ranged from 15 to 30 mm. No visible effect against this microorganism was observed in the remaining 9 isolates. No antagonistic activity against the other test experimental conditions. The findings indicate that some bacteria isolated from the soil possess the ability to inhibit microbial growth, providing a preliminary scientific basis for their further identification and more detailed investigation of their bioligical properties.*

Keywords:*soil bacteria, bacterial isolates, antagonistic activity, inhibition zone, test microorganisms, well diffusion method, biotechnological potential.*

Аннотация. *В данном исследовании представлены результаты выделения бактерий из образца почвы, отобранного на территории Косонского района Кашкадарьинской области, и изучения их воздействия на тестовые микроорганизмы. В ходе исследования было отобрано 20 бактериальных изолятов, у которых изучали антагонистические свойства по отношению к Staphylococcus aureus, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa и Bacillus subtilis. Полученные результаты показали, что 11 изолятов обладали способностью подавлять рост S. aureus. Зона подавления роста у данных изолятов составляла от 15 до 30 мм. У остальных 9 изолятов заметного воздействия на данный микроорганизм не выявлено. В отношении других тестовых микроорганизмов антагонистическая активность в условиях проведённого исследования не обнаружена. Полученные результаты свидетельствуют о наличии у некоторых бактерий, выделенных из почвы, способности ограничивать рост микроорганизмов и создают первоначальную научную основу для их дальнейшей идентификации и более детального изучения их биологических свойств.*

Ключевые слова*: почвенные бактерии, бактериальные изоляты, антагонистическая активность, зона подавления роста, тестовые микроорганизмы, метод лунок, биотехнологический потенциал.*

ADABIYOTLAR SHARHI:

Tuproq mikroorganizmlarning, xususan, turli xil bakteriyalarning tabiiy yashash muhitlaridan biri hisoblanadi. Tuproq tarkibidagi bakteriyalar organik moddalarni parchalash, oziqa elementlarining aylanishida ishtirok etish hamda o‘simliklar bilan o‘zaro foydali munosabatlar hosil qilish kabi muhim biologik jarayonlarda qatnashadi. Ayniqsa, o‘simlik ildizlari atrofidagi rizosfera bakteriyalar uchun nisbatan qulay muhit bo‘lib, bu hududda mikroorganizmlar soni va xilma-xilligi yuqori bo‘lishi mumkin [1, 2]. O‘zbekistonda ham tuproq va o‘simlik rizosferasidan foydali bakteriyalarni ajratib olish bo‘yicha tadqiqotlar olib borilgan. D. Egamberdieva tomonidan yarim qurg‘oqchil hudud tuproqlarida yetishtirilgan g‘o‘za, bug‘doy, beda va pomidor rizosferasidan bakteriyalar ajratib olinib, ularning ayrim biologik xususiyatlari o‘rganilgan. Tadqiqotda ajratilgan bakteriyalarning ayrimlari fermentlar va auksin hosil qilishi hamda ayrim fitopatogen zamburug‘larga nisbatan antagonistik xususiyat namoyon qilishi aniqlangan [2]. Bu ma’lumotlar mahalliy tuproq sharoitlaridan bakterial izolyatlarni ajratib olish va ularning foydali biologik xususiyatlarini dastlabki baholash muhimligini ko‘rsatadi. Egamberdieva

va hammualliflarining O‘zbekistonning sho‘rlangan tuproqlarida yetishtirilgan bug‘doy rizosferasiga oid tadqiqotlarida ham o‘simlik bilan bog‘liq bakteriyalar ajratib olinib, ularning o‘simlik o‘sishini rag‘batlantiruvchi xususiyatlari o‘rganilgan. Mualliflar rizosfera bakteriyalarining noqulay tuproq sharoitlariga moslashgan shakllarini aniqlash va ularning foydali xususiyatlarini baholash imkoniyatini ko‘rsatganlar [3]. Tuproqdan bakteriyalarni ajratib olishda mikrobiologik ekish usullari muhim ahamiyatga ega. Bunda tuproq namunasi ma’lum miqdorda steril suvda suspenziya holiga keltirilib, ketma-ket suyultirish va qattiq ozuqa muhitiga ekish orqali alohida koloniyalar hosil qilinadi. Hosil bo‘lgan koloniyalar morfologik belgilariga ko‘ra tanlanib, qayta ekish orqali sof bakterial kulturaga ega bo‘lishga erishiladi. Shu sababli tuproq bakteriyalarini o‘rganishda namunani to‘g‘ri olish, suyultirish, ozuqa muhitiga ekish va sof koloniyalarni ajratish bosqichlari muhim hisoblanadi [1, 4]. Tuproqdan ajratilgan bakteriyalarning biologik ahamiyatini aniqlashda ularning antagonistik faolligini o‘rganish alohida o‘rin tutadi. Antagonistik bakteriyalar boshqa mikroorganizmlarning o‘sishini turli mexanizmlar, jumladan, antimikrob moddalar hosil qilish, oziqa va yashash joyi uchun raqobat qilish orqali cheklashi mumkin [5, 6]. Rizosfera bakteriyalarining biologik nazoratdagi ahamiyati ham aynan shu xususiyatlar bilan bog‘liq. Lugtenberg va Kamilovaning ma’lumotlariga ko‘ra, o‘simlik bilan bog‘liq foydali bakteriyalar o‘simlik o‘sishini bevosita yoki bilvosita rag‘batlantirishi mumkin. Bilvosita ta’sir mexanizmlaridan biri mikroorganizmlarga qarshi antagonistik ta’sir ko‘rsatish bo‘lib, bunda antibioz, oziqa va ekologik makon uchun raqobat kabi mexanizmlar muhim hisoblanadi [5]. Compant va hammualliflar ham tuproqdan kelib chiqqan foydali bakteriyalar o‘simlik rizosferasini kolonizatsiya qilishi va o‘simlik salomatligiga ijobiy ta’sir ko‘rsatishi mumkinligini ta’kidlaganlar [6]. Tuproq bakteriyalarining antimikrob xususiyatlarini baholashda agar-diffuziya usuli keng qo‘llaniladigan dastlabki skrining usullaridan biridir. Yilmaz, Soran va Beyatli tomonidan tuproqdan ajratilgan Bacillus shtammlarining antimikrob faolligi agar-diffuziya usuli yordamida o‘rganilgan. Tadqiqotda ayrim Bacillus izolyatlari Gram-musbat va Gram-manfiy test bakteriyalarining o‘sishini cheklashi aniqlangan, bunda Gram-musbat bakteriyalarga nisbatan ta’sir kuchliroq bo‘lgan [7]. Mazkur natijalar tuproqdan ajratilgan bakteriyalarni test mikroorganizmlariga nisbatan antagonistik faollik bo‘yicha dastlabki saralashning ilmiy asosini ko‘rsatadi. Wellerning tadqiqotlarida ham rizosfera bakteriyalaridan biologik nazorat vositasi sifatida foydalanish imkoniyatlari yoritilgan. Bunda ayrim bakteriyalar fitopatogen mikroorganizmlarning rivojlanishini cheklashda muhim rol o‘ynashi qayd etilgan [8]. Shuningdek, tuproq bakteriyalarining antagonistik xususiyatlarini aniqlash keyinchalik istiqbolli izolyatlarni identifikatsiya qilish va ularning biologik faol

moddalarini o‘rganish uchun dastlabki bosqich sifatida qaralishi mumkin. Shunday qilib, mavjud ilmiy ma’lumotlar tuproq va ayniqsa o‘simlik ildizlari atrofidagi rizosfera bakteriyalari orasida biologik faol va antagonistik xususiyatga ega mikroorganizmlar mavjudligini ko‘rsatadi. Shu nuqtayi nazardan, Qashqadaryo viloyati Koson tumani tuproqlaridan bakteriyalarni ajratib olish, ularni sof izolyatlar holida olish va test mikroorganizmlariga nisbatan antagonistik faolligini baholash dolzarb yo‘nalishlardan biridir. Mazkur tadqiqotda 20 ta sof bakterial izolyat tanlab olinib, ularning Staphylococcus aureus, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa va Bacillus subtilis ga nisbatan antagonistik xususiyatlari tekshirilgan. Natijada izolyatlarning 11 tasida S. aureus o‘sishini cheklovchi faollik aniqlangan bo‘lib, ingibitsiya zonasi 15–30 mm oralig‘ida bo‘lgan.

MATERIAL VA METODLAR:

Tatqiqot uchun Qashqadaryo viloyati Koson tumanidan tuproq namunalari olindi .Asosan o‘simlik ildiz zonasi atrofidan konvert usulida maydonning 5 ta qismidan 10 smli chuqurlikdan tuproq namunalari olindi. Namunalarni taxminan 100 gr dan polietilen paketga solindi va barcha namunalar aralshtirildi. Paket ustiga olingan hudud nomi, sanasi va olingan chuqurligi yozildi.

Namunalar muzlatgichda +4 C haroratda saqlandi.Tuproq namunasidan 10 gramm miqdorda o‘lchab olindi va hajmi 250 ml bo‘lgan steril Erlenmeyer kolbasiga solindi. Kolbaga tuproq ustidan 90 ml **distillangan suv** qo‘shildi.Aralashmani **vortex** yordamida 5 daqiqa davomida aralshtirildi.Aralashtirishdan maqsad, tuproqdan mikroorganizmlarni ajralib chiqishi uchundir.Yirik zarrachalar cho‘kishi uchun aralashma 10 daqiqa tindiriladi. Tindirilgan suspenziyamizning ustki qismidan 1 ml miqdorda olinib, 9 ml distillangan suv yordamida suyultiriladi.Bu suyultirish 10^1 dan 10^5 gacha davom etadi. Har bir suyultirilgan suspenziya namunadan 1 ml dan olib steril ozuqa LB-Luria-Bertani Agar:10g/L pepton, 5g/L xamirturush ekstrakti, 5g/L NaCl, 15 g/L agar qo‘yilgan petri idishiga sirtiga yoyib ekish usuli yordamida ekildi va +28 C haroratda 24-48 soat davomida inkubatsiya qilindi.Tuproqdagi mikroorganizmlarni koloniyalarni ajratib olish orqali izolyatsiya qilindi. LB ozuqa muhitga ekish orqali ajratilgan koloniyalar tanlab olindi. Ekishdan so‘ng hosil bo‘lgan bakterial koloniyalar belgilariga ko‘ra kuzatildi. Shakli, rangi, kattaligi, chetlarining tuzilishi va boshqa tashqi belgilari bo‘yicha koloniyalar tanlab olindi. Ular LB ozuqa muhitli boshqa petrilarga ko‘chirildi.Bu bilan mustaqil koloniyalar ajratib olinadi va har biri alohida bakteriyalar hisoblanadi.

Tatqiqotning keyingi bosqichi uchun 20 xil sof bakterial izolyat tanlab olindi.Izolyatlar shartli ravishda 104, 105, 106 va boshqa kodlar bilan belgilandi. Bu kodlar tatqiqot davomida namunalarni chalkashtirib yubormaslik uchun hamda olingan natijalarni tizimli ravishda qayd etish imkonini berdi. Ajratib olingan 20 ta

sof bakterial izolyatning biotexnologik potensialini dastlabki baholash maqsadida ularning test mikroorganizmlariga nisbatan antagonistik faolligi o‘rganildi. Tajriba mobaynida bakterial izolyatlarning quyidagi test mikroorganizmlarga nisbatan ta’siri baholandi: *Staphycoccus aureus, Candida albicans, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis*.

Antagonistik faollikni aniqlashda **chuqurcha(agar well diffusion) usulidan** foydalanildi. Tekshirilayotgan bakteriya izolyatlari va test mikroorganizamlari kerakli ozuqa muhitlarida hamda laboratoriya protokoliga muvofiq, bir xil sharoitlarda tekshirildi.Inkubatsiya davri 48 soatni tashkil qilib, bu davrdan so‘ng test mikroorganizamlarining o‘sishi kuzatildi. Bakterial izolyat atrofida test mikroorganizmlarining o‘sishi kuzatilmagan bo‘lsa yoki susaygan zona paydo bo‘lishi antagonistik faollik mavjudligini ko‘rsatadi. Har bir bakterial izolyat bo‘yicha natijalar qayd etib qo‘yildi. Natijada 20 ta tekshirilgan izolyatdan ichidan **11 tasi kamida bitta test mikroorganizmasiga javoban antagonistik faollik namoyon qilgani** aniqlandi. Tajriba natijasi asosida bakterial izolyatlarni ikki guruhga ya’ni:

1. Faollik namoyon qilgan(11 ta).
2. Aniq antagonistik faollik kuzatilmagan izolyatlarga ajratildi(9 ta).

Faollik namoyon qilgan izolyatlarni keyingi tatqiqotlar uchun istiqbolli izolyatlar sifatida tanlab olindi. Antagonistik faollikni baholashda test mikroorganizmlari atrofida hosil bo‘lgan o‘sishni ingibitsiya qilish zonasining mavjudligi va zarur hollarda esa zonaning diametri hisobga olinadi. Olingan natijalar bakterial izolyatlarda mikroorganizmlarga qarshi biologik faol modda ishlab chiqarish yoki boshqa antagonistik mexanizmlar mavjud bo‘lishi mumkinligini ko‘rsatdi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Fayziyev V.B. Tuproq mikrobiologiyasi. — Toshkent, 2019.

2. Egamberdieva D. Plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from a Calcisol in a semi-arid region of Uzbekistan: biochemical characterization and effectiveness. — Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2005. — 168-jild, 1-son. — 94–99-betlar. DOI: 10.1002/jpln.200321283.

3. Egamberdieva D., Kamilova F., Validov S., Gafurova L., Kucharova Z., Lugtenberg B. High incidence of plant growth-stimulating bacteria associated with the rhizosphere of wheat grown on salinated soil in Uzbekistan. — Environmental Microbiology, 2008. — 10-jild, 1-son. — 1–9-betlar. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01424.x.

4. Fuhrmann J.J. Isolation of microorganisms producing antibiotics. In: Methods of Soil Analysis. — Soil Science Society of America, 1994.

5. Lugtenberg B., Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. — Annual Review of Microbiology, 2009. — 63-jild. — 541–556-betlar. DOI: 10.1146/annurev.micro.62.081307.162918.

6. Compant S., Clément C., Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. — Soil Biology and Biochemistry, 2010. — 42-jild, 5-son. — 669–678-betlar. DOI: 10.1016/j.soilbio.2009.11.024.

7. Yilmaz M., Soran H., Beyatli Y. Antimicrobial activities of some Bacillus spp. strains isolated from the soil. — Microbiological Research, 2006. — 161-jild, 2-son. — 127–131-betlar. DOI: 10.1016/j.micres.2005.07.001.

8. Weller D.M. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. — Annual Review of Phytopathology, 1988. — 26-jild. — 379–407-betlar. DOI: 10.1146/annurev.py.26.090188.002115.