



**INDOLIL SIRKA KISLOTASI SINTEZ QILISH QOBILIYATI BO'YICHA
ENDOFIT ACHITQILARNING SKRININGI VA IDENTIFIKATSIYASI**

*Shodiyeva Dildora G'iyosovna,
Abdulmyanova Liliya Ilyasovna
O'zRFA Mikrobiologiya instituti
dildoraannayeva786@gmail.com
+998979001040*

Annatotsiya. Maqolada respublikaning turli hududlarida o'sadigan mevali o'simliklarning rezavorlari, mevalari va gullaridan ajratilgan endofit achitqilarni aniqlash bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan. 15 ta namunadan 25 ta achitqi izolyati MALDI TOF usuli yordamida aniqlandi. Endofitik achitqilarning 6 avlodi va 9 turi aniqlangan. Indolil sirka kislota (ISK) sintez qilish qobiliyati 14 ta shtammda tekshirilgan. *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima* va *Meyerozyma guilliermondii* shtammlari ISK sintez qilish qobiliyati bo'yicha saralab olangan.

Kalit so'zlar: Endofit achitqilar, MALDI TOF, indolil sirka kislota, salkovskiy reagent.

Abstract. The article presents data on the identification of endophytic yeasts isolated from berries, fruits and flowers of fruit plants growing in different regions of the republic. 25 yeast isolates from 15 samples were identified using the MALDI TOF method. 6 genera and 9 species of endophytic yeasts were identified. The ability to synthesize indolyl acetic acid (IAA) was tested in 14 strains. The strains of *Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Meyerozyma guilliermondii* were ranked according to their ability to synthesize IAA.

Keywords: Endophytic yeasts, MALDI TOF, indolyl acetic acid, Salkovsky reagent.

ADABIYOTLAR SHARHI

So'nggi yillarda organik qishloq xo'jaligiga bo'lgan e'tibor ortib bormoqda, bu esa butun dunyo bo'ylab qishloq xo'jaligi sohasida ustuvor yo'nalishga aylandi. Organik qishloq xo'jaligi amaliyotlari bilan umumiy qishloq xo'jaligi amaliyotlarini almashtirish uchun hal qilinishi kerak bo'lgan ikkita asosiy muammo mavjud: zararkunandalarni nazorat qilish va kimyoviy moddalar ishlatmasdan yuqori hosilni qayta tiklash. Ushbu muammolarni turli organizmlar (bioagentlar) yordamida hal qilish mumkin, ular antifungal yoki o'sishni rag'batlantiruvchi yuqori potentsialga ega. Tuproq rizosferasining foydali mikroorganizmlar bilan boyitilishi o'simlik ildizlarini oziqlantirish sharoitlarini yaxshilashdagi ahamiyati mikrobial o'g'itlarni qo'llashga olib keldi. Ular sun'iy sintetik o'g'itlar bilan solishtirganda sezilarli afzalliklarga ega, ya'ni ular fiziologik jihatdan faol moddalarni sintez qilib, o'simliklarga taqdim etadi, fotosintez

faolligini oshiradi, o‘simliklarda fermentativ jarayonlarni kuchaytiradi, suv rejimini yaxshilaydi, boshqa tuproq mikroorganizmlarining faolligini rag‘batlantiradi, fitopatogen mikroorganizmlarga qarshi antagonistik ta‘sir ko‘rsatadi va o‘simliklarning himoya funksiyalarini oshiradi [2].

Dunyo bo‘ylab va hozirgi vaqtda Birlashgan Arab Amirliklarida, Yevropa davlatlarida, biologik o‘g‘itlarni qo‘llash orqali kimyoviy o‘g‘itlar sarfini kamaytirishga katta qiziqish mavjud [3]. Shuningdek, turli kelib chiqishi, shu jumladan mikrobial bo‘lgan o‘shini rag‘batlantiruvchi moddalarni qo‘llash orqali o‘simliklarning hosildorligini oshirish usullariga katta e‘tibor beriladi.

Bir qator bakteriyalar, zamburug‘larning ma‘lum fitagormonlar sintez qilish va o‘simliklarning o‘shini rag‘batlantirish haqida ma‘lumotlar mavjud. O‘simliklar bilan mikroorganizmlarning o‘zaro munosabati necha million yillar davomida amalga oshgan va bu esa ularning fitagormon faolligiga sezilarli ta‘sir ko‘satgan deb taxmin qilinadi. Auksinlar, shu jumladan indol-3-asetik kislota, eng keng tarqalgan va eng ko‘p o‘rganilgan o‘simlik gormonlari qatoriga kiradi. Geteroauksin o‘simlik organlarining o‘shini va rivojlanishini tartibga soladi. Tadqiqotlar shuni ko‘rsatdiki, achitqi hujayralari tomonidan chiqarilgan auksin, makkajo‘xori va xantal urug‘larining ildiz rivojlanishini rag‘batlantiradi. Ma‘lumotlarga ko‘ra, indolil sirka kislota o‘rmon tropik hududlari va fermer ekotizimlaridan olingan achitqilardan sintez qilinishi aniqlangan [2]. O‘simlik o‘shini rag‘batlantiruvchi achitqilar hosilni oshirishi va patogen infeksiyalarni kamaytirishi, shuningdek biotik va abiotik stresslarni kamaytirishi mumkin.

Achitqilar eukaryotik, bir hujayrali mikroorganizmlar bo‘lib, ular ekologik jihatdan fermentatsiya, parchalanish, biodegradatsiya va mikroorganizmlar kolonizasiyasida ishtirok etadi. So‘nggi yillarda achitqilar qishloq xo‘jaligi sohasida o‘simlik o‘shini rag‘batlantirish va azotli bioo‘g‘itlar ishlab chiqarishda muhim ahamiyat kasb etmoqda [9]. Jumladan, endofitik achitqilarning o‘simlik o‘shini rag‘batlantirishdagi roli keng o‘rganilmoqda. O‘simliklardan ajratilgan endofit achitqilar, masalan, mandarindan va uzumzorlardan olingan achitqilar ham indolil sirka kislota ishlab chiqarishi mumkinligi aniqlangan. Bu holat endofit achitqilarning o‘simlik o‘shini rag‘batlantirishdagi potentsialini yanada kengaytiradi va turli mamlakatlardan olingan achitqilarning bu jarayondagi ahamiyatini ko‘rsatadi [7].

ISK ishlab chiqaruvchi achitqilar, masalan, *Candida valida*, *Rhodotorula glutinis*, *Trichosporon asahii*, *Lindera saturus* va *Rhodotorula mucilaginos*aning o‘simlik o‘shini rag‘batlantirishdagi qo‘llanilishi haqida ma‘lumotlar mavjud va bu achitqilardan foydalanib bioo‘g‘itlar ishlab chiqish uchun asos yaratadi [1]. Jumladan, *Ascomycete* achitqisi *Cyberlindnera saturnus* makkajo‘xori ildizlaridan ajratib olingan bo‘lib, u ISK ishlab chiqarish va o‘simliklarda o‘sh jarayonlarini rag‘batlantirishda samarali ekanligi tasdiqlangan. Shuningdek, *Rhodotorula mucilaginosa* kabi *basidiomycete* achitqilari ham ISK ishlab chiqarib, azot stressi ostida bir nechta muhim ekinlar o‘shini rag‘batlantiradi. Tailand tadqiqotchilari tomonidan o‘tkazilgan tadqiqotlar, endofitik achitqilarning ISK sintez qilish qobiliyatining keng tarqalganligini va ularning shakarqamish, guruch kabi tropik ekinlar bilan bog‘langan faoliyatini ko‘rsatdi. Yaqinda ISK ishlab chiqaruvchi achitqilar bo‘yicha tadqiqotlar, shu

jumladan *Basidiomycetous* achitqilar, masalan, *Cryptococcus flavescens*, *C. laurentii*, *C. rajasthanensis*, *Hannaella sinensis*, *Pseudozyma aphidis*, *Rhodosporidiobolus fluvialis*, *Rhodotorula graminis*, *Rh. grinbergii*, *Rh. paludigena*, *Rh. terreus*, *Saitozyma flava*, *Sporidiobolus ruineniae*, *Sporobolomyces nylandii* va *Trichosporon asahii* [8–11] kabi, va *Ascomycetous* achitqilar, masalan, *Aureobasidium pullulans*, *Candida glabrata*, *Ca. maltose*, *Ca. mesorugosa*, *Ca. metapsilosis*, *Ca. rugosa*, *Ca. tropicalis*, *Cyberlindnera fabianii*, *Debaryomyces nepalensis*, *Lodderomyces elongisporus*, *Metschnikowia koreensis*, *M. saccharicola*, *Pichia kudriavzevii*, *Torulaspora delbrueckii*, *T. kloeckeri* va *Saccharomyces cerevisiae* kabi, o‘rganilgan. Shu tufayli, Respublika hududida mevali daraxtlarning endofit achitqilarini o‘rishni rag‘batlantiruvchi moddalar ishlab chiqaruvchisi sifatidagi imkoniyatlarini o‘rganish juda dolzarbdir.

2.TADQIQOT METODLARI

2.1. O‘simlik materiallarini yig‘ish

Endofit achitqi izolyatlarini ajratib olish uchun o‘simliklarning gullari 2024 yul mart va aprel oylarida tajribadan bir necha soat oldin Toshkentning Yunusobod tumanidagi daraxtlardan olingan. O‘simliklarning mevalari esa may oyida Qulupnayning Viktoriya navi - Toshkentning Hasanboy, qulupnayning karalevskiy navi Toshkentning Qibray, o‘rik Surxondaryo viloyati, oq va qora tut Toshkentning Yangiyo‘l tumani, gilos esa Namangan viloyatidan tajriba uchun keltirildi. Saqlangan olma tajribadan bir mavsum oldin daraxtdan uzilgan edi. O‘simliklar morfologik belgilariga ko‘ra identifikatsiya qilingan.

2.2. Endofit achitqilarni ajratib olish va identifikatsiyalash

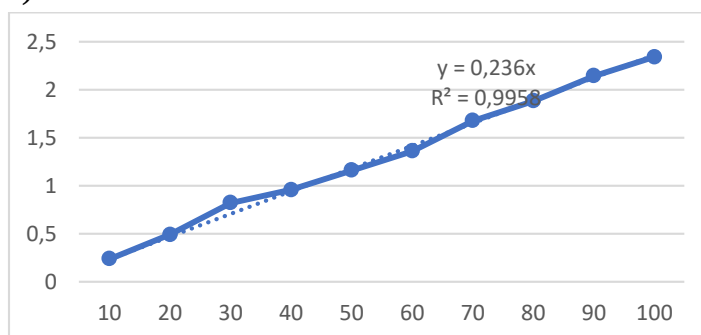
Endofit achitqilar o‘simliklarning yangi mevalari va generativ qismlaridan Abdel-Hafez va boshqalar usul bilan ajratildi [7-12]. Ishda bevosita ajratish va suyuq ozuqa muhitga chuqur ekish usuli qo‘llanilgan. O‘rganilgan namunalar aseptik sharoitda, turli xil kombinatsiyalangan sterilizatsiya vositalaridan (etanol 70%, NaOCl 3%) va sirt sterilizatsiyasi uchun ta'sir qilish muddatidan foydalangan holda maydalangan. Mevalar 3-5 daqiqa davomida sterilizatsiya qilindi, namunalari 5 mmgacha kichik bo‘laklarga bo‘lindi va maydalangan namunalar kolbalarga olindi. Ozuqa muhitga bakteriya rivojlanishga to‘sqinlik qilishi uchun 200 mkg/l miqdorda sefotaksim qo‘shildi. Ekishda bakteriyalarga qarshi antibiotik sifatida sefatksim (200mkg/ml)dan foydalandik.

Inkubatsiya 5-14 kun davomida, 28-30C haroratda, kolbalarda termostatik sharoitda va 180 aylanish tezligidagi tebratgichda o‘tkazildi. Shundan so‘ng visual o‘zgarishlar (loyqalik, gaz hosil bo‘lishi) paydo bo‘lgandan so‘ng, shtrix usuli bilan petrilarga olindi. Petrilardagi achitqiga o‘xshash koloniyalar mikroskopik tekshiruvlardan o‘tkazildi va bir xil muhitli, antibiotiksiz kasaklarga olindi. Olingan izolyatlar dastlab Kurtzman va boshqalar (2000) ma’lumotlariga ko‘ra tasniflandi. So‘ng MALDI-TOFF usuli orqali identifikatsiya qilindi. MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) mikrobiologik klinik laboratoriyada patogen bakteriyalarni, ayniqsa mikroaeroblar, anaeroblar, mikobakteriyalar va zamburug'larni aniqlash uchun qo‘llanilayotgan va keng tarqalgan metod

hisoblanadi. Olingan izolyatlar o‘rganilgach, ular MALDI TOF ga indentifikatsiya uchun olib borildi. Matritsali lazerli desorbsion ionizatsiya (MALDI) TOF MS ning afzalliklari chorak asrdan buyon ko‘zga tashlanmoqda. Bunda dastlab uning kam vaqt talab etishi, namuna miqdori kam talab etilishi, arzonligi kabi bir qancha qulayliklarga ega. MALDI tahlillarining keyingi muvaffaqiyatlari uning kengaygan bazasi orqali ta‘minlandi va bu borada katta yutuqlarga erishgan deb aytish mumkin.

2.3. Indolil sirka kislota miqdorini aniqlash

Indolil sirka kislota miqdorini aniqlash Salkovskiy reagenti yordamida amalga oshirildi (Gordon & Weber, 1951). Achitqi izolyatlari susla ozuqa muhitida 5 kun davomida, 28-30°C haroratda, kolbalarda termostatik sharoitda va 180 aylanish tezligidagi tebratgichda o‘stirildi. 1 ml suspenziya 3000 g tezlikda 5 daqiqa davomida sertrifuga qilindi va 0.5 ml supernatant Salkovskiy reagenti yordamida (2 ml 0.5M temir(III) xlorid va 98 ml 35% sulfat kislota) indolil sirka kislotani aniqlash maqsadida ishlatildi. 30 daqiqadan so‘ng, rangning (qizil) rivojlanishi spektrofotometr yordamida (Unico 1200 spektrofotometri, AQSh) 530 nm da o‘lchandi. Indolil sirka kislota konsentratsiyasini hisoblash uchun toza indolil sirka kislota yordamida kalibrlash egri chizig‘i tuzildi (1-rasm).



1-rasm IUK standartining kalibrlash egri chizig‘i

NATIJA VA MUHOKAMA

Endofit achitqilar ajratib olish uchun respublikaning turli hududlarida o‘sadigan mevali daraxtlarning mevalari, rezavorlari, gullari saralab olingan. 15 ta namunadan 25 ta achitqi izolyatlari ajratildi va MALDI TOF usuli yordamida indentifikatsiya qilindi (1-jadval).

1-jadval O‘simliklardan olingan endofit achitqilar

MALDI TOF idenditifikatsiya natijalari

№	O‘simlik nomi	MALDI TOF indentifikatsiya natijasi
1	<i>Fragaria vesca</i>	<i>Pichia klyuveri</i> <i>Pichia kudriavzevii</i> , <i>Hansenia opuntiae</i>
2	<i>Mórus álba</i> , <i>Morus nigra</i>	<i>Pichia kudriavzevii</i>
3	<i>Prúnus ávium</i>	<i>Klyuveromyces marxianus</i> , <i>Nakazawae holstii</i> , <i>Pichia kudriavzevii</i>
4	<i>Prunus armeniaca</i>	<i>Hanseniaspora uvarum</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i>
5	<i>Prunus persica</i>	<i>Meyerozyma guilliermondii</i> , <i>Pichia klyuveri</i> , <i>Metschnikowia pulcherrima</i>

6	<i>Pyrus armeniacifolia, Cerasus vulgaris, Prunus domestica, Rubus idaeu, Malus domestica</i>	<i>Pichia kluyveri</i>
7	<i>Ficus carica</i>	<i>Pichia kluyveri, Hanseniaspora opuntiae</i>
8	<i>Punica granátum</i>	<i>Pichia kluyveri, Metschnikowia pulcherrima</i>
9	<i>Diospyros kaki Tpip</i>	<i>Hanseniaspora uvarum, Metschnikowia pulcherrima</i>
10	<i>Actinidia deliciosa</i>	<i>Meyerozyma carpophila</i>

Tadqiqotlar natijasida endofit achitqilarning 6 ta avlodi (*Pichia, Hansenia, Klyuveromyces, Nakazawae, Metschnikowia, Meyerozyma*) va 9 ta turi aniqlandi.

Indolil sirka kislota sintez qilish qobiliyatini aniqlash uchun endofit achitqilarning 14 ta kulturasi (2-jadval) tanlangan.

2-jadval - Endofit achitqilarning kultura suyuqligidagi indolil sirka kislotaning miqdoriy tarkibi

№	Stamm nomlari	Sof biomassa, g/l	ISK, mkg/ml	ISK, mkg/g
1	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	33.8	0.28	8.28
2	<i>Klyuveromyces marxianus</i>	36.5	0.20	5.48
3	<i>Hansenia opuntiae</i>	8.6	0.02	2.33
4	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	22.5	0.31	13.78
5	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	57.5	0.23	4.00
6	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	21.0	0.20	9.52
7	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	15.9	0.25	15.72
8	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	9.7	0.11	11.34
9	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	25.1	0.20	7.97
10	<i>Hanseniaspora uvarum</i>	11.4	0.23	20.18
11	<i>Hanseniaspora opuntiae</i>	8.5	0.10	11.76
12	<i>Meyerozyma guilliermondii</i>	55.3	0.25	4.52
13	<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	27.0	0.07	2.60
14	<i>Hansenia spora uvarum</i>	20.4	0.17	8.33

Jadval ma'lumotlaridan ko'rinib turibdiki, umumiy hisobda shtamlardagi indolil sirka kislota miqdori kutilgan darajada yuqori emas. *Hanseniaspora uvarum, Metschnikowia pulcherrima* va *Meyerozyma guilliermondii* shtammlarida 14-20 mkg/g gacha ISK miqdor aniqlangan.

Adabiyotlardagi ma'lumotlarga ko'ra, endofit achitqilarning kultura suyuqligidagi ISK miqdori achitqi turiga, yetishtirish sharoitlariga (harorat, pH, ozuqa muhit tarkibi) va

kulturalarning o'sish bosqichi kabi turli omillarga qarab farq qilishi mumkin. Buni hisobga olsak, biz tanlagan kulturalarda, ehtimol, ozuqaviy muhit va yetishtirish sharoitlarini optimallashtirish orqali ularning ISK hosildorligini oshirish mumkin.

XULOSA

Shunday qilib, mahalliy o'simliklarning mevalari, rezavorlari va gullaridan ajratilgan endofit achitqilar yetishtirish sharoitlarini optimallashtirish va ozuqaviy muhitni tanlash bilan ISK ishlab chiqarishning yangi manbasiga aylanishi mumkin.

ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Peng, X., Wang, Y., Tang, L. J., Li, X. X., Xiao, Y. W., Zhang, Z. B., ... & Zhu, D. (2018). Yeasts from Nanfeng mandarin plants: occurrence, diversity and capability to produce indole-3-acetic acid. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 32(6), 1496-1506.
2. Streletskii, R. A., Kachalkin, A. V., Glushakova, A. M., Demin, V. V., & Chernov, I. Y. (2016). Quantitative determination of indole-3-acetic acid in yeasts using high performance liquid chromatography—tandem mass spectrometry. *Microbiology*, 85, 727-736.
3. Nassar, A. H., El-Tarabily, K. A., & Sivasithamparam, K. (2005). Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. *Biology and Fertility of soils*, 42, 97-108.
4. Petkova, M., Petrova, S., Spasova-Apostolova, V., & Naydenov, M. (2022). Tobacco plant growth-promoting and antifungal activities of three endophytic yeast strains. *Plants*, 11(6), 751.
5. Sun, P. F., Fang, W. T., Shin, L. Y., Wei, J. Y., Fu, S. F., & Chou, J. Y. (2014). Indole-3-acetic acid-producing yeasts in the phyllosphere of the carnivorous plant *Drosera indica* L. *PloS one*, 9(12), e114196.
6. Xin, G., Glawe, D., & Doty, S. L. (2009). Characterization of three endophytic, indole-3-acetic acid-producing yeasts occurring in *Populus* trees. *mycological research*, 113(9), 973-980.
7. Kachalkin, A., Glushakova, A., & Streletskii, R. (2022). Diversity of endophytic yeasts from agricultural fruits positive for phytohormone IAA production. *BioTech*, 11(3), 38.
8. Bunsangiam, S., Sakpuntoon, V., Srisuk, N., Ohashi, T., Fujiyama, K., & Limtong, S. (2019). Biosynthetic pathway of indole-3-acetic acid in basidiomycetous yeast *Rhodospiridiobolus fluvialis*. *Mycobiology*, 47(3), 292-300.
9. Soponputtaporn, S., Srithaworn, M., Promnuan, Y., Srirat, P., & Chunhachart, O. (2024). Indole-3-Acetic Acid Producing Yeasts in the Phyllosphere of Legumes: Benefits for Chili Growth. *Trends in Sciences*, 21(3), 7335-7335.
10. Limtong, S., & Koowadjanakul, N. (2012). Yeasts from phylloplane and their capability to produce indole-3-acetic acid. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28, 3323-3335.

11. Nutaratat, P., Amsri, W., Srisuk, N., Arunrattiyakorn, P., & Limtong, S. (2015). Indole-3-acetic acid production by newly isolated red yeast *Rhodospiridium paludigenum*. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 61(1), 1-9.

12. Giyosovna, S. D., & Ilyasovna, A. L. (2024). FRUITS AND BERRIES OF UZBEKISTAN ARE POTENTIAL SOURCES OF ENDOPHYTIC YEASTS. *Science and innovation*, 3(Special Issue 45), 130-134. https://ilmiyanjumanlar.uz/co_view.php?id=7173