



UDK: 579.222.3

ORCID: 0009-0003-5264-4326

**CHELIDONIUM MAJUS L. O‘SIMLIK ENDOFIT BAKTERIYALARINING
ANTIBAKTERIAL XUSUSIYATLARI.**

Salimova Sarvinoz Baxtiyorovna

*Tayanch doktorant, O‘zbekiston Respublikasi Fanlar
Akademiyasi Mikrobiologiya instituti, Toshkent*

Nasmetova Saodat Mamajanovna

*DSc., Yetakchi ilmiy xodim, Tayanch doktorant, O‘zbekiston Respublikasi Fanlar
Akademiyasi Mikrobiologiya instituti, Toshkent*

Gulyamova Toshxon Gafurovna

*DSc., Professor, O‘zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti,
Toshkent*

Annotatsiya Endofitlar nafaqat o‘simlikning ikkilamchi metabolitlarini sintez qilishda yoki ularni o‘zgartirishda ishtirok etadilar, balki boshqa ko‘plab biologik faol funksiyalarga ega bo‘lgan ko‘plab metabolitlarni hosil qiladilar. Ushbu tadqiqot ishida *Chelidonium majus* L. o‘simligining turli qismidan ajratilgan bakteriyalarni patogen mikroorganizmlar (gram-musbat bakteriyalardan: *Staphylococcus aureus* va *Bacillus subtilis*; gram-manfiy bakteriyalardan: *Pseudomonas aeruginosa* va *Escherichia coli* lar va achitqilardan *Candida albicans*) ga qarshi faolligi o‘rganildi va yuqori faollikka ega bo‘lgan endofit bakteriyalar MALDI-TOF mass spektrafotometr yordamida identifikatsiya qilindi.

Kalit so‘zlar *Chelidonium majus* L, endofit bakteriya, antibacterial faollik, MALDI-TOF.

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ
РАСТЕНИЙ CHELIDONIUM MAJUS L.**

Аннотация. Эндوفиты не только участвуют в синтезе вторичных метаболитов растения или их модификации, но и образуют множество других метаболитов, выполняющих множество других биологически активных функций. В этой исследовательской работе была изучена антибактериальная активность бактериальных изолятов, выделенных из различных органов растения *Chelidonium majus* L. против патогенных микроорганизмов (из грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* и *Bacillus subtilis*; от грамотрицательных бактерий: *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia*

coli и дрожжей *Candida albicans*) и эндофитные бактерии с высокой активностью были идентифицированы с помощью масс-спектрофотометра MALDI-TOF.

Ключевые слова. *Chelidonium majus L.*, эндофитная бактерия, антибактериальная активность, MALDI-TOF.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF BACTERIA ENDOPHYTIC ISOLATED FROM *CHELIDONIUM MAJUS L.*

Abstract Endophytes not only participate in the synthesis or modification of secondary metabolites of the plant, but also produce many other metabolites with biologically active functions. In this research work *Chelidonium majus L.* the activity of bacteria isolated from different parts of its plant against pathogenic microorganisms (from gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*; from gram-negative bacteria: *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* and *Candida albicans* from yeast) has been studied and endophytic bacteria with high activity were identified using the MALDI-TOF mass spectrophotometer.

Key words. *Chelidonium majus L.*, endophytic bacteria, antibacterial activity, MALDI-TOF

KIRISH

So‘nggi yillarda o‘simliklarning endofitik zamburug‘lari dori vositalarining asosiy manbalari sifatida keng qabul qilinmoqda va ulardan yangi tuzilmalar va turli bioaktivliklarga ega bo‘lgan ko‘plab birikmalar doimiy ravishda ajratilmoqda[1]. Endofitlar tabiatda inson ekspluatatsiyasi potentsialiga ega bo‘lgan xilma-xil va qimmatli manbalardir[2,3]. So‘nggi yillarda yuqori salohiyatiga ega mikroblarning manbalarini izlash tobora ortib borayotgan yo‘nalishga aylandi, chunki tuproq mikroorganizmlaridan ma‘lum metabolitlarni takroriy kashf qilish tez-tez uchraydi. Kam o‘rganilgan muhitdagi mikroorganizmlarning, shu jumladan endofitlar kabi o‘simlik bilan bog‘liq mikroorganizmlarning potentsialiga katta qiziqish mavjud. Shubhasiz, o‘simlik mikro ekotizimining muhim tarkibiy qismlari sifatida endofitlar turli xil ikkilamchi metabolitlarning sintezi va to‘planishiga katta ta‘sir ko‘rsatadi. Bugungi kunga qadar saratonga qarshi dorilar, antibiotiklar, antiviral preparatlar, diabetga qarshi dorilar va immunosuppressant birikmalari kabi sezilarli terapevtik ta‘sirga ega faol moddalarni o‘simlik endofitlari ishlab chiqarishi o‘rganilmoqda [4,5].

Chelidonium majus L. (odatda "katta celandine" nomi bilan tanilgan) Yevropa, G‘arbiy Osiyo va Amerikaga keng tarqalgan ko‘p yillik o‘simlik. Ushbu botanika oilasining o‘ziga xos xususiyati asrlar davomida ishlatilgan ildizlarda ham, havo qismlarida ham mavjud bo‘lgan sariq-to‘q sariq rangli lateks ishlab chiqarishdir. G‘arbiy Yevropa, Xitoy fitoterapiya va an‘anaviy tibbiyotida asosan antimikrobiyal va yallig‘lanishga qarshi xususiyatlari va terining ta‘siriga qarshi davolovchi faoliyati tufayli yuqori baholanadi [8,9]. Ikkilamchi metabolitlar - bu o‘simliklarning o‘sishi va rivojlanishi davomida atrof-muhit bilan o‘zaro ta‘sir natijasida

hosil bo‘lgan mahsulotlar, asosan alkaloidlar, flavonoidlar, terpenoidlar, peptidlar, fenollar, sterollar va qo‘shimcha kichik molekulyar organik birikmalarni o‘z ichiga oladi [6,7]. Ushbu tadqiqot *Chelidonium majus* L. o‘simligidan endofitik bakteriyalarni o‘rganib, ularning antibakterial salohiyatini baholash uchun o‘tkazildi.

MATERIAL VA METODLAR.

Chelidonium majus L. o‘simlik endofitlarini ajratish. To‘plangan o‘simliklar qisqa vaqt ichida steril suvida yuvildi va poyalari, barg, ildiz va gul qismlari 2-3 mm uzunlikdagi bo‘laklarga kesildi. Endofitlarni ajratib olishda *Chelidonium majus* o‘simlik qismlarini va NaOCl ning 10% eritmasi bilan 60soniya davomida samarali ishlov berilgach, 70% etil spirti bilan 45soniya va 30% etil spirti bilan 30soniya davomida ushlab turildi. Keyin dezinfektsiyalangan o‘simlik qismlari steril suvda 5marta chayqaldi va drenajlandi. Keyin ular steril skalpel bilan uzunasiga kesib olindi va ochiq ichki yuzasi pastga, plitalarga qaragan holda yotqizib qo‘yildi. Oldindan tayyorlab olingan petri chashkasidagi go‘sh t pepton agar ozuqa muhitiga ekildi.

Ajratilgan o‘simlik endofitlaridan biomassa olish. *Chelidonium majus* L. o‘simligi ildiz, poya, barg qismidan ajratilgan 19 ta bakteriya izolyatlarini 50ml go‘sh t-pepton suyuq ozuqa muhitiga ekib, tebratgichda (sheyker) 180ay/min da 28°C haroratda, 3 kun davomida biomassa olish uchun ko‘paytirildi. Keyin biomassa va kultural suyuqlikni birgalikda liofikkada quritildi.

Ikkilamchi metabolitlarning umumiy ekstraktlarini ajratib olish. *Chelidonium majus* L.dan ajratib olingan endofit izolyatlarining fermentatsion suyuqligi va unda xosil bo‘lgan biomasadan ikkilamchi faol metabolitlarni keng spektrini ajratib olishda Hazalin uslubidan foydalanildi. Tadqiqot davomida usul bir oz modifikatsiya qilindi. Bunda 0.5 gr izolyatning liofikkada quritilgan massasi Potter gomogenizatorida maydalandi, xosil bo‘lgan gomogenatni 100 ml li kolbaga solib, 70% etanoldan 20 ml solindi va xona haroratida tebratgichda 160 ayl/min tezlikka qo‘yildi. Bir sutkadan so‘ng aralashma Whatman filʼtr qog‘ozi orqali filtrlendi. Olingan etanoli ekstrakt rotorli bug‘latgichda quritildi va hosil bo‘lgan quruq ekstrakt DMSOda eritildi. Olingan ushbu umumiy ekstrakt boshlang‘ich eritma sifatida ishlatildi.

Endofit bakteriyalarining ekstraktlarining antibakterial faolligini aniqlash. Umumiy ekstraktlarning antibakterial faolligi agarga diffuziyanishi usuli bilan aniqlandi. Bunda Gram-musbat bakteriyalardan: *Staphylococcus aureus* va *Bacillus subtilis*; Gram-manfiy bakteriyalardan: *Pseudomonas aeruginosa* va *Escherichia coli* lar va achitqilardan *Candida albicans* dan foydalanildi. Gram-musbat bakteriyalardan: *Staphylococcus aureus* va *Bacillus subtilis*; Gram-manfiy bakteriyalardan: *Pseudomonas aeruginosa* va *Escherichia coli* lar va achitqilardan *Candida albicans* go‘sh t pepton ozuqa muhitiga ekildi, 18-20soat davomida 37°C haroratda termostatda o‘stirildi.

Barcha bakteriya suspenziyalari MakFarland Standart bo‘yicha 0,5 (1×10^7 KOE/ml) qilib olindi. Bakterial suspenziyalar 0,1ml miqdorida likobchadagi go‘sh t-peptonli agar ozuqa muhiti yuzasiga ekib chiqildi va 30minut inkubatsiya qilindi. Diametri 10 mm li chuqurchalar hosil qilinib, ekstraktlarning DMSO dagi 1mg/ml li eritmalaridan 100 mkl dan quyildi. Musbat

nazorat sifatida Seftriakson–(3- avlod sefalosporinlar guruhi) 1mg/ml, flukonazol 1mg/ml antibiotiklari olingan. Manfiy nazorat sifatida esa DMSO olindi. Petri likobchalari termostatda 37°C haroratda 24 soat davomida inkubatsiya qilinganidan so‘ng test mikroorganizmlar o‘shini ingibirlash maydoni o‘lchandi. Har bir tajriba uch martadan qaytarildi.

Chelidonium majus L. o‘simligidan ajratilgan bakteriyalarni identifikatsiya qilish. Petri chashkasida go‘sht pepton agar ozuqa muhitida o‘simlikdan ajratilgan endofit bakteriyalar 24soat davomida termostatda 28°Cda o‘stirildi. Chelidonium majus L. o‘simlik tarkibidan ajratilgan endofit bakteriyalarini MALDI-TOF mass spektrafotometr yordamida identifikatsiya qilindi.

NATIJALAR VA ULARNING MUHOKAMASI.

O‘tkazilgan tadqiqotlar natijalari shuni ko‘rsatdiki, Chelidonium majus L. o‘simlikining ildizi, poyasi va barglaridan ajratilgan 19 ta bakterial izolatdan to‘rtta izolyatsiya - BK14, BC8, BL2, BK17 antibakterial faollikni ko‘rsatdi (1-jadval) .

BK14 izolati eng faol bo‘lgan, ushbu izolatning ekstraktleri tekshirilgan barcha mikroorganizmlarga, shu jumladan gram-musbat va gram-manfiy bakteriyalarga, shuningdek achitqi zamburug‘lariga qarshi antibakterial faollikni ko‘rsatdi. Shu bilan birga, izolyat ekstrakti boshqa izolatlariga nisbatan *Staphylococcus aureus* (ingibirlash zonasi 30 mm) va *Bacillus subtilis* (ingibirlash zonasi 24 mm) ga qarshi eng yuqori faollikni namoyon etdi.

BC8 izolati tekshirilgan barcha mikroorganizmlarga qarshi yuqori faollikni ko‘rsatdi, *Pseudomonas aeruginosa* bundan mustasno. U ayniqsa, *Escherichia coli* (ingibirlash zonasi 25 mm bo‘lgan)ga qarshi aniq faollikni ko‘rsatdi.

BL2 va BK17 izolatleri *P. aeruginosa* va *E. coli* o‘shini bostirmadi. Bundan tashqari, BL2 izolati *C. albicans*ga ingibir ta’sir ko‘rsatmadi. Ikkala izolyat *S. aureus* va *B. subtilis*ga ham nisbatan past antagonistik faollikni ko‘rsatdi.

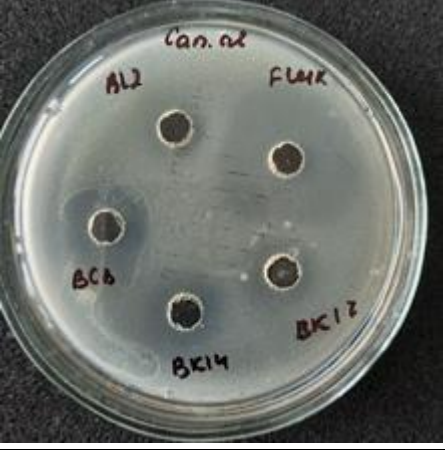
Ijobiy nazorat sifatida antibiotik seftriakson ishlatilgan, u patogen mikroorganizmlarga 23±0,03 mm dan 40±0,01 mm gacha bo‘lgan ingibirlash zonalarini ko‘rsatdi. Musbat nazorat sifatida ishlatilgan DMSO erituvchisi antibakterial faollikni ko‘rsatmadi va ingibirlash zonalarini hosil qilmadi (1-rasm).

1-jadval

Chelidonium majus L. o‘simlik endofit bakteriyalarining patogen mikroorganizmlar o‘shini ingibirlash aktivligi.

№	Izolyat	Antibakterial faollik (o‘shini ingibirlash zonolari, mm)				
		<i>S. aureus</i>	<i>B. Subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C.albicans</i>
1	BK14	30±0,21	24±0,13	15±0,18	19±0,16	16±0,13
2	BC8	22±0,19	20±0,18	-	25±0,17	13±0,13
3	BL2	14±0,13	13±0,19	-	-	-
4	BK17	20±0,11	14±0,15	-	-	13±0,13
Антибиотик						

1	Seftriakson	36±0,01	39±0,01	23±0,02	40±0,01	29±0,03
---	-------------	---------	---------	---------	---------	---------

Gram-musbat bakteriyalar	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
	
Gram-manfiy bakteriyalar	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
	
Achtitqi - <i>Candida albicans</i>	
	

1rasm. Endofit izolatlari ekstraktlari bilan bakteriyalar o'sishini ingibirlovchi zonalar.

Antibakterial faollikni ko'rsatgan bakterial izolatlarni aniqlash uchun biz mass-spektrometriyaning MALDI-TOF usulidan foydalandik, bu mikroorganizmlarni ularning massa

spektrlari bo'yicha yuqori aniqlik bilan aniqlash imkonini beradi. Unga ko'ra o'simlikning ildiz qismidan ajratilgan BK14 va BK17 izolyatlarimiz *Lyisinibacillus fusiformis* va *Bacillus pumilis* turiga mansub ekanligi, poya va barg qismidan ajratilgan BC8 va BL2 izolyatlarimiz *Bacillus cereus* turiga mansub ekanligi aniqlandi (2-jadval).

2-jadval

Chelidonium majus L. o'simlik tarkibidan ajratilgan endofit bakteriyalarini MALDI-TOF mass spektrofotometr yordamida identifikatsiya qilish va ularning electron lupa ostida ko'rinishi

1	BK 14	<i>Lyisinibacillus fusiformis</i> .		
2	BC 8	<i>Bacillus cereus</i>		
3	BL 2	<i>Bacillus cereus</i>		
4	BK 17	<i>Bacillus pumilis</i>		

Lysinibacillus endofitining antibakterial faolligi adabiy manbalarda ko'rsatilgan bir qator tadqiqotlarda namoyish etilgan. Masalan, meva va sabzavot chiqindilaridan ajratilgan *Lysinibacillus* izolati *Staphylococcus aureus* kabi gram-musbat mikroorganizmlarga va boshqa oziq-ovqat patogenlariga qarshi sezilarli faollikni ko'rsatdi. Izolyatsiya faolligi bakteriotsinni ishlab chiqarish bilan bog'liq bo'lib, u patogenlarning o'sishini ingibirlaydi, bakteriyalar membranalariga zarar yetkazadi va ularning yaxlitligini buzadi [10].

Adabiy tadqiqotlarda shuningdek, faol birikma — pirol-2-karboksilik kislota (PCA) ajratilganda *Bacillus cereus* (ZBE) endofitik shtammining yuqori antibakterial faolligini qayd etilgan. PCA ta'sir qilish mexanizmi bakterial hujayra membranalarini yo'q qilishdan iborat bo'lib, uning antibakterial vosita sifatida potentsialini tasdiqlaydi [11,12].

Bundan tashqari, adabiy manbalarda dengizdan olingan *Bacillus pumilus* ekstraktining gramm-musbat (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*) va gramm-manfiy bakteriyalarga (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*) qarshi antibakterial faolligini aniqlashga qaratilgan tadqiqotlar keltirilgan. Ushbu shtammning ekstrakti diametri 19 dan 30 mm gacha bo'lgan ingibirlash zonalari bilan sinovdan o'tgan barcha patogenlarning keng ingibirlash spektrini namoyish etdi [13].

XULOSA.

Shunday qilib, adabiy manbalar va bizning tajribalarimiz *Chelidonium majus* L. o'simlikidan ajratib olgan *Lysinibacillus fusiformis* BK14, *Bacillus cereus* BC8, *Bacillus cereus* BL2 va *Bacillus pumilus* BK17 shtammlari bakterial infeksiyalarni davolash va antibiotiklarga qarshilik ko'rsatish uchun tabiiy antibakterial vosita sifatida shuningdek, oziq-ovqat sanoatida konservantlar sifatida foydalanish imkoniyatiga ega ekanligini tasdiqlaydi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J (2004) Natural products from endophytic microorganisms. J Nat Prod 67:257–268
2. Nesme, J.; Simonet, P. The soil resistome: A critical review on antibiotic resistance origins, ecology and dissemination potential in telluric bacteria. Environ. Microbiol. 2015, 17, 913–930. [CrossRef] [PubMed]
3. Donadio, S.; Monciardini, P.; Alduina, R.; Mazza, P.; Chiocchini, C.; Cavaletti, L.; Sosio, M.; Puglia, A.M. Microbial technologies for the discovery of novel bioactive metabolites. J. Biotechnol. 2002, 99, 187–198. [CrossRef] [PubMed]
4. Gouda, S.; Das, G.; Sen, S.K.; Shin, H.S.; Patra, J.K. Endophytes: A Treasure House of Bioactive Compounds of Medicinal Importance. Front. Microbiol. 2016, 7, 1538. [CrossRef] [PubMed]
5. Preethi, K.; Manon-Mani, V.; Lavanya, N. Endophytic Fungi: A Potential Source of Bioactive Compounds for Commercial and Therapeutic Applications; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2021; pp. 247–272. [CrossRef]

6. Kubala, S.; Garnczarska, M.; Wojtyla, Ł.; Clippe, A.; Kosmala, A.; Zmieńko, A.; Lutts, S.; Quinet, M. Deciphering priming-induced improvement of rapeseed (*Brassica napus* L.) germination through an integrated transcriptomic and proteomic approach. *Plant Sci.* 2015, 231, 94–113. [CrossRef]
7. Fang, L.; Pandi, W.; Xiaobo, Z.; Xiaofei, L.; Gang, W. The molecular basis of glandular trichome development and secondary metabolism in plants. *Plant Gene* 2017, 12, 1–12. [CrossRef]
8. M.L. Colombo et al. Pharmacological activities of *Chelidonium majus* L. (Papaveraceae) *Pharmacol. Res.*(1996)
9. S.J. Biswas et al. Efficacy of a plant extract (*Chelidonium majus* L.) in combating induced hepatocarcinogenesis in mice *Food Chem. Toxicol.* (2008)
10. **Varish Ahmad ; A.N. Muhammad Zafar Iqbal; Mohd Haseeb; Mohd Sajid Khan. Antimicrobial potential of bacteriocin producing *Lysinibacillus jx416856* against foodborne bacterial and fungal pathogens, isolated from fruits and vegetable waste. *Anaerobe* Volume 27, June 2014, 87-95**
11. **Sahar Wefky Mostafa Hassan. Antibacterial, Anticoagulant and Anti-inflammatory Activities of Marine *Bacillus cereus* S1. *J Pure Appl Microbiol.* 2016;10(4):2593-2606 <https://doi.org/10.22207/JPAM.10.4.15>**
12. Yuxi Yue; Chong Chen; Kai Zhong; Yanping Wu. Purification, Fermentation Optimization, and Antibacterial Activity of Pyrrole-2-carboxylic Acid Produced by an Endophytic Bacterium, *Bacillus cereus* ZBE, Isolated from *Zanthoxylum bungeanum* Industrial & Engineering Chemistry Research *Ind. Eng. Chem. Res.* 2022, 61, 3, 1267–1276 <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.1c04164>
13. Eman A. Beyari *, Naheda M. Alshammari et al. Influences of *Bacillus pumilus* SA388 as an environmentally friendly antibiotic alternative on growth performance, blood biochemistry, immunology, cecal microbiota, and meat quality in broiler chickens. *Poultry Science* Volume 103, Issue 11, November 2024, 104-115