NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI
ILMIY AXBOROTNOMASI, [2026-9]
ISSN:2181-1458
ISSN:2181-0427

03.00.00-BIOLOGIYA
journal.namdu.uz
BIOLOGICAL

GALOFIT O‘ SIMLIKLARDAN RIZOSFERA ZAMBURUG‘ LAR AJRATISH VA TAVSIFLASH

Amirova U.O‘
G‘ ulomova G.G‘
Yasenjiang A
Abdusamatov S.A
Sultanov N.N
Jalolova B.Sh
Mirzo Ulug‘ bek nomidagi O‘ zbekiston Milliy universiteti, Toshkent, O‘ zbekiston

Annotatsiya: *Ushbu tadqiqotda galofit o‘ simliklar rizosferasidan zamburug‘ larni ajratib olish, ularning sho‘ rlanish sharoitiga chidamliligini aniqlash hamda fosforni mobilizatsiya qilish va fermentativ faolliklarini tavsiflash maqsad qilingan. Tadqiqotning asosiy maqsadi sho‘ rlangan tuproqlarda yashovchi, o‘ simliklarning oziqlanishi va o‘ sishiga ijobiy ta’sir ko‘ rsatishi mumkin bo‘ lgan istiqbolli zamburug‘ izolyatlarini aniqlashdan iborat. Standart mikrobiologik usullar yordamida galofit o‘ simliklar rizosferasidan jami 11 ta zamburug‘ izolyati ajratib olindi va sof kulturaga keltirildi. Ajratib olingan izolyatlarning morfologik va kultural xususiyatlari o‘ rganilib, ularning turli konsentratsiyadagi NaCl sharoitida o‘ sish qobiliyati, ya’ni galotolerantligi aniqlandi. Tadqiqot natijalariga ko‘ ra, izolyatlar orasida sho‘ rlanishga turli darajada chidamlilik kuzatildi va yuqori galotolerantlik xususiyatiga ega istiqbolli izolyatlar tanlab olindi. Shuningdek, barcha zamburug‘ izolyatlarining mineral fosfatlarni mobilizatsiya qilish qobiliyati o‘ rganildi. Tadqiqot natijalari izolyatlar orasida fosforni mobilizatsiya qilish faolligi sezilarli darajada farq qilishini ko‘ rsatdi. Yuqori fosfat mobilizatsiya qiluvchi izolyatlar sho‘ rlangan tuproqlarda o‘ simliklar uchun o‘ zlashtiriladigan fosfor miqdorini oshirishda potensial mikrobiologik vosita sifatida baholandi. Bundan tashqari, ajratib olingan zamburug‘ izolyatlarining proteaza, lipaza, amilaza, sellyulaza va xitinaza kabi hujayradan tashqari fermentlarni ishlab chiqarish qobiliyati aniqlandi. Fermentativ faollik natijalari izolyatlarning biotexnologik jihatdan turli xil potensialga ega ekanligini ko‘ rsatdi. Yuqori fermentativ va fosfat mobilizatsiya qiluvchi faollikka ega izolyatlar keyingi tadqiqotlar uchun istiqbolli shtammlar sifatida tanlab olindi. Amirova U.O‘ G‘ ulomova G.G‘ Yasenjiang A Abdusamatov S.A*

Kalit so‘ zlar: *galofit o‘ simliklar, rizosfera zamburug‘ lari, sho‘ rlanishga chidamlilik, fosfat mobilizatsiyasi, hujayradan tashqari fermentlar, proteaza, lipaza, amilaza, sellyulaza, xitinaza.*

ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РИЗОСФЕРНЫХ ГРИБОВ ИЗ ГАЛОФИТНЫХ РАСТЕНИЙ

Аннотация: *Целью данного исследования являлось выделение грибов из ризосферы галофитных растений, определение их устойчивости к засолению, а также характеристика их способности к мобилизации фосфатов и ферментативной активности. Основной задачей исследования было выявление перспективных грибных изолятов, обитающих в засоленных почвах и способных оказывать положительное влияние на питание и рост растений. С использованием стандартных микробиологических методов из ризосферы галофитных растений было выделено и очищено до чистых культур 11 грибных изолятов. Были изучены морфологические и культуральные характеристики выделенных грибов, а также определена их способность к росту при различных концентрациях NaCl, то есть галотолерантность. Результаты исследования показали различную степень устойчивости изолятов к засолению, среди которых были отобраны перспективные изоляты с высокой галотолерантностью. Кроме того, была исследована способность всех грибных изолятов к мобилизации неорганических фосфатов. Полученные результаты продемонстрировали значительные различия в активности мобилизации фосфатов между изолятами. Изоляты с высокой фосфатмобилизующей активностью были рассмотрены в качестве потенциальных микробиологических агентов для повышения доступности фосфора для растений в условиях засоленных почв. Также была определена способность выделенных грибных штаммов продуцировать внеклеточные ферменты, включая протеазу, липазу, амилазу, целлюлазу и хитиназу. Результаты исследования ферментативной активности показали наличие у изолятов различного биотехнологического потенциала. Изоляты с высокой ферментативной и фосфатмобилизующей активностью были отобраны в качестве перспективных штаммов для дальнейших исследований.*

Ключевые слова: *галофитные растения, ризосферные грибы, солеустойчивость, мобилизация фосфатов, внеклеточные ферменты, протеаза, липаза, амилаза, целлюлаза, хитиназа.*

ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF RHIZOSPHERE FUNGI FROM HALOPHYTIC PLANTS

Abstract: ***This study aimed to isolate fungi from the rhizosphere of halophytic plants, determine their tolerance to salinity, and characterize their phosphate mobilization and enzymatic activities. The main objective of the study was to identify promising fungal isolates inhabiting saline soils that may positively contribute to plant nutrition and growth. Using standard microbiological methods, a total of 11 fungal isolates were isolated from the rhizosphere of halophytic plants and purified to obtain pure cultures. The morphological and cultural characteristics of the isolated fungi were studied, and their ability to grow under different concentrations of NaCl, i.e., their halotolerance, was determined. The results showed varying levels of salt tolerance among the isolates, and promising isolates with high halotolerance were selected. In addition, the ability of all fungal isolates to mobilize inorganic phosphate was investigated. The results demonstrated considerable variation in phosphate mobilization activity among the isolates. Isolates exhibiting high phosphate-mobilizing activity were considered potential microbiological agents for increasing the availability of phosphorus to plants under saline soil conditions. Furthermore, the ability of the isolated fungal strains to produce extracellular enzymes, including protease, lipase, amylase, cellulase, and chitinase, was determined. The enzymatic activity results demonstrated that the isolates possess diverse biotechnological potential. Isolates exhibiting high enzymatic and phosphate-mobilizing activities were selected as promising strains for further studies.*** ***Амирова У.О Гуломова Г.Г Ясенцзян ААбдусаматов С.А Султанов Н.Н Джалолова Б.Ш Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека, Ташкент, Узбекистан***

Keywords: *halophytic plants, rhizosphere fungi, salt tolerance, phosphate mobilization, extracellular enzymes, protease, lipase, amylase, cellulase, chitinase.*

Kirish

So‘ nggi o‘ n yilliklarda tuproq sho‘ rlanishi global miqyosdagi eng muhim ekologik va agronomik muammolardan biri sifatida e’tirof etilmoqda. Yer yuzidagi qishloq xo‘ jaligi yerlarining katta qismi sho‘ rlanish jarayoniga uchragan bo‘ lib, bu jarayon o‘ simliklarning o‘ sishi, hosildorligi va tuproq ekotizimining barqarorligiga salbiy ta’sir ko‘ rsatadi.

Galofitlar — yuqori tuz konsentratsiyasiga moslashgan o‘ simliklar bo‘ lib, ular sho‘ r tuproqlarda normal rivojlana oladi. Ushbu o‘ simliklar nafaqat tuzli muhitga moslashgan fiziologik mexanizmlarga ega, balki ularning ildiz atrofidagi mikrobiologik muhit — rizosfera ham o‘ ziga xos mikroorganizmlar majmuasini shakllantiradi. Ilmiy tadqiqotlar shuni ko‘ rsatadiki, galofit o‘ simliklar rizosferasida mikroorganizmlarning, jumladan bakteriya va zamburug‘ larning xilma-xilligi oddiy tuproq bilan solishtirganda ancha yuqori bo‘ ladi. Bu mikroorganizmlar o‘ simlik bilan simbiotik yoki mutualistik aloqalar orqali uning stressga chidamliligini oshirishga yordam beradi. (Yang, J. et al., 2009)

Galofit o‘ simliklar rizosferasida yashovchi zamburug‘ lar ekstremal sharoitlarga moslashganligi sababli biotexnologik jihatdan juda katta qiziqish uyg‘ otadi. Bunday zamburug‘ lar yuqori tuz konsentratsiyasida ham metabolik faoliyatini saqlab qolish xususiyatiga ega bo‘ lib, ular turli xil ekstrasellyulyar fermentlar ishlab chiqarish qobiliyatiga ega. Fermentlar mikroorganizmlar tomonidan organik moddalarning parchalanishini ta’minlaydi hamda tuproqdagi uglerod, azot va fosfor aylanishida muhim rol o‘ ynaydi.

Ildiz rizosferasida yashaydigan mikroorganizmlar o‘ simlik uchun turli menerallarni o‘ zlashtirishini osonlashtiradi. Turli stresli sharoitlarda ham o‘ simlikni o‘ sishini va rivojlanishini yaxshilaydi. Patogen mikroorganizmlarni o‘ simlik ildizi orqali yuqishini kamaytiradi. O‘ simliklar uchun atmosferadagi erkin azotni fiksatsiya qiladi. Fosfor bilan oziqlanishini yaxshilaydi. Bundan tashqari mikroorganizmlar o‘ simlik o‘ sishi uchun zarur bo‘ lgan giberillin, indolil-3-sirka kislotasi kabi o‘ stiruvchi moddalarni sintez qiladi. Mikroorganizmlar ishlab chiqargan ikkilamchi metabalitlar rizosferadagi patogenlarni kamaytirish va o‘ simlikning o‘ sishini rag‘ batlantirishda muhim o‘ rin tutadi. Zamburug‘ lar ishlab chiqargan gidrolitik fermentlar esa patogen hujayra devorini eritishi aniqlangan.

Galofitlarda suksulentlik ionlarning vakuolalarda to‘ planishi (Na^+, Cl^- va prolin kabi moddalarning yig‘ ilishi) orqali suv potensialini pasaytirib, tuz zararlanishini kamaytiradi (Song J, et al., 2009).

Galofitlarda, ayniqsa *Haloxylon ammodendron* va *Suaeda physophora* turlarida, kuchli ion kompartmentalizatsiya mexanizmi tufayli xloroplast va mitoxondriyalarning tuzilmasi sho‘ r stressda ham deyarli buzilmaydi. Masalan, bu turlarda 700 mM NaCl ta’sirida ham tylakoidlarning strukturasida o‘ zgarish kuzatilmagan. Shuningdek, *Artemisia anethifolia* o‘ simligida 200 mM NaCl gacha bo‘ lgan tuz sharoitida xloroplastlar butunligicha saqlanadi va mitoxondriyadagi kristalar soni kamaymaydi (Fan H, Dong K H, Hou Y P, et al. 2011). *Suaeda altissima* esa 750 mM NaCl

ostida ham normal xloroplast faoliyatini saqlaydi (Balnokin Y V, Kurkova E B, Myasoedov N A, et al., 2004). Demak, kuchli ion kompartmentalizatsiyasi galofitlarda sho‘ r stressga chidamlilikning asosiy omilidir.

Galofit rizosferasidan ajratilgan zamburug‘ lar biogumus hosil bo‘ lishi, organik moddalarning mineralizatsiyasi, biostimulyatorlar ishlab chiqarish va ekologik toza bioo‘ g‘ itlar yaratishda istiqbolli manba sifatida qaralmoqda.

Shu sababli galofit o‘ simliklarning rizosferasidan zamburug‘ larni ajratish, ularni identifikatsiya qilish hamda ularning fermentativ faolligini aniqlash zamonaviy mikrobiologiya va ekologiya fanlari uchun dolzarb ilmiy muammo hisoblanadi.

Tarkibida natriy tuzlari ko‘ p bo‘ lgan va elektr o‘ tkazuvchanligi (ECe) 4 dS/m dan yuqori bo‘ lgan tuproqlar sho‘ r tuproqlar sifatida, tarkibida karbonat va bikarbonat ko‘ p bo‘ lgan, pH > 8.5 bo‘ lganlar esa sodali tuproqlar sifatida tasniflanadi. Yuqori RSC (Residual Sodium Carbonate) qiymatiga ega suv bilan sug‘ orish ham vaqt o‘ tishi bilan tuproqning pH darajasini oshiradi, natijada guruch va bug‘ doy hosildorligi mos ravishda 16% va 14% ga kamayadi (Sheoran, P., et al. 2021).

2. Materiallar va metodlar.

2.1. Galofit zamburug‘ larni ajratib olish

Tadqiqot ob’ekti sifatida Qoraqalpog‘ istonning sho‘ rlangan va arid hududlarga xos bo‘ lgan quyidagi galofit o‘ simlik turlari tanlab olindi: *Haloxylon aphyllum* (Minkw.) Iljin (qora saksovul), *Halocnemum strobilaceum* (Pall.) Bieb (sarsazan) hamda *Halostachys belangeriana* (Moq.) Botsch (qorabaroq). Mazkur o‘ simliklar yuqori darajada tuz stressiga moslashgan bo‘ lib, ularning rizosferasi o‘ ziga xos mikrobiologik hamjamiyat bilan ajralib turadi.

Namuna olish jarayonida rizosfera tuprog‘ i o‘ simlik ildiz tizimiga yopishgan qatlamdan ehtiyotkorlik bilan ajratib olindi. Jarayon davomida aseptika qoidalariga qat’iy amal qilindi: barcha ishlov berishlar steril asbob-uskunalar yordamida bajarildi, namuna olish vaqtida tashqi mikroflora bilan kontaminatsiya ehtimoli maksimal darajada minimallashtirildi. Bu esa ajratib olingan zamburug‘ izolyatlarining aynan rizosfera muhitiga xosligini ta’minlash imkonini berdi va natijalarning ishonchliligini oshirdi.

Laboratoriya sharoitida rizosfera tuprog‘ i namunalaridan zamburug‘ larni ajratib olish uchun standart mikrobiologik usullar qo‘ llanildi. Xususan, namunalar ketma-ket suyultirish (serial dilution) usuli orqali tayyorlanib, ozuqa muhitlariga (PDA — Potato Dextrose Agar) ekildi. Har bir namuna uch nusxada ekildi.

Rizosfera zamburug‘ larni ajratib olish uchun ekmalar 25 C haroratda 3-7 kun davomida inkubatsiya qilindi. Inkubatsiya jarayonidan so‘ ng hosil bo‘ lgan turli morfologik tipdagi koloniyalar tanlab olinib, qayta ekish yo‘ li bilan sof kulturaga keltirildi. Ushbu bosqichda koloniyalarning rangi, tuzilishi, o‘ sish tezligi kabi belgilariga asoslanib dastlabki differensial tanlash amalga oshirildi (Toppo et al., 2024).

2.2 Ajratilgan zamburug‘ larning fosfat mobilizatsiya qilish faolligini aniqlash

Ajratib olingan rizosfera zamburug‘ larning fosfat mobilizatsiya qilish xususiyatini aniqlash uchun izolyatlar Pikovskaya agar ozuqa muhitida tekshirildi. Pikovskaya ozuqa muhitining tarkibi (g/L): achitqi ekstrakti — 0,5; $Ca_3(PO_4)_2$ — 5,0; $(NH_4)_2SO_4$ — 0,5; KCl — 0,2; $MgSO_4$ — 0,1; $MnSO_4$ — 0,0001; $FeSO_4$ — 0,0001; agar-agar — 15,0; pH — 7,0. Indikator sifatida 0,04 % bromokrezol purple qo‘ llanildi (Pikovskaya, 1948) Indikator qo‘ shilgan ozuqa muhiti Petri idishlariga quyildi va sof holatdagi izolyatlar ekildi. Ekmalar 28 ± 2 °C haroratda 1 hafta davomida inkubatsiya qilinib, kuzatib borildi. Barcha inokulyatsiyalar uch nusxada amalga oshirildi. Fosforni o‘ zlashtirish xususiyatiga ega mikroorganizmlar tomonidan fosfat tuzlarini erituvchi fermentlar ishlab chiqarilishi natijasida ozuqa muhiti pH qiymati o‘ zgarib, rang almashinuvi va izolyat atrofida halqa hosil bo‘ lishi kuzatildi. Izolyatlarning faolligi hosil bo‘ lgan halqa diametriga qarab baholandi (Nipuni Mayadunna et al., 2023).

Rizosfera zamburug‘ larning galotolerentligini aniqlash

Ajratilgan mikromitsetlarning sho‘ rlanishga chidamliligi turli konsentratsiyadagi NaCl qo‘ shilgan muhitlarda o‘ sish ko‘ rsatkichlari orqali baholandi.

Tadqiqotlar shuni ko‘ rsatadiki, galotolerant zamburug‘ lar yuqori tuz sharoitida ham o‘ sish qobiliyatini saqlab qoladi va metabolik faoliyatini davom ettiradi (M. R. Etesami & A. Maheshwari, 2018). Koloniyaning diametri va o‘ sish tezligi asosiy baholash mezonlari sifatida olindi.

2.4 Faol rizosfera zamburug‘ izolyatlarining ferment faolligini aniqlash metodlari

Galofit o‘ simliklar rizosferasidan ajratilgan zamburug‘ izolyatlarining ferment faolligini aniqlash mikroorganizmlarning ekologik moslashuvi va biotexnologik potensialini baholashda muhim ahamiyatga ega. Zamburug‘ lar tomonidan ishlab chiqariladigan fermentlar organik moddalarning parchalanishida asosiy rol o‘ ynaydi va ularning yashash muhitiga moslashuvini ta’minlaydi. Ilmiy tadqiqotlarda ko‘ rsatilishicha, rizosfera zamburug‘ lari ayniqsa gidrolitik fermentlar — proteazalar, lipazalar, amilazalar va sellyulazalarni faol ishlab chiqaradi. Shu sababli ushbu ishda ferment faolligini aniqlash kompleks usullar asosida olib borildi.

Ajratilgan izolyatlar dastlab Potato Dextrose Agar (PDA) muhitida 25–28°C da 5–7 kun davomida o‘ stirildi. Faol o‘ sish bosqichidagi koloniyalardan inokulum tayyorlanib, suyuq ozuqa muhitlariga ko‘ chirildi.

Ferment ishlab chiqarishni rag‘batlantirish uchun Czapek-Dox Broth va Sabouraud Broth muhitlaridan foydalanildi. Ayrim tadqiqotlarda substrat qo‘shilishi (masalan, kraxmal, sellyuloza) ferment sintezini sezilarli oshirishi aniqlangan.

Zamburug‘ kulturasi 24–30°C da 5–10 kun davomida inkubatsiya qilinib, keyinchalik fermentlarni aniqlash uchun kulturaviy suyuqlikdan foydalanildi.

Lipaza ishlab chiqarish

Rizosfera zamburug‘lar turli pH qiymatlarida va turli harorat sharoitlarida 7 kun davomida suyuq ozuqa muhitida o‘stirildi. O‘stirishdan so‘ng kultural suyuqlik 3000 aylanish/minut tezlikda 10 daqiqa davomida sentrifuga qilindi. Olingan supernatantda lipaza fermenti faolligi Winkler va Stuckmann (1979) usuli asosida aniqlanib, substrat sifatida pnitrofenil palmitat (pNPP) dan foydalanildi (Winkler et al., 1979). Substrat eritmasini tayyorlash uchun A eritmaning 1 ml (10 ml izopropanolda 30 mg pNPP eritilgan) miqdori B eritmaning 9 ml ga (0,05 M fosfat buferi, pH 8,0; tarkibida 207 mg natriy deoksixolat va 100 mg gum arabik bo‘lgan) qo‘shildi. Substrat eritmasi 37 °C gacha qizdirildi. So‘ngra 15–20 ml hajmli probirkalarga 2 ml substrat eritmasi va 1 ml ferment ekstrakti qo‘shildi. Aralashma suv hammomida 37 °C da 15 daqiqa inkubatsiya qilindi. Inkubatsiyadan so‘ng optik zichlik 410 nm to‘lqin uzunligida spektrofotometr yordamida aniqlandi. Ferment faolligining bir birligi (U) 1 daqiqa davomida 1,0 μmol p-nitrofenol ajratib chiqarishga qodir bo‘lgan ferment miqdori sifatida qabul qilindi. Standart egri chiziq p-nitrofenol yordamida tuzildi.

Proteaza ishlab chiqarish

Rizosfera zamburug‘larning proteaza ferment faolligini sifat jihatdan baholash uchun steril yog‘siz sutli agar ozuqa muhitidan foydalanildi. Ozuqa muhiti tarkibi (g/L): kazeinning pankreatik hazmi — 5,0; xamirturush ekstrakti — 2,5; glyukoza — 1,0; agar — 15,0; distillangan suv — 1000 ml va 7 % yog‘siz sut (induktor). Izolyatlar 28 °C haroratda 48 soat davomida inkubatsiya qilindi. Inkubatsiyadan so‘ng petrilarda koloniyalar atrofida rangsiz zonalarning hosil bo‘lishi proteaza fermenti faolligining ko‘rsatkichi sifatida baholandi (Malleswari et al., 2013).

Xitinaza faolligini aniqlash

Zamburug‘ izolyatlarining xitinolitik faolligi kolloid xitin substrati asosida DNS assay yordamida aniqlanadi. Ushbu metod qaytaruvchi shakarlar hosil bo‘lishini spektrofotometrik o‘lchashga asoslangan.

0,5% kolloid xitin 0,1 M sitrat bufer (pH 7.0) da tayyorlandi. 1 ml ferment eritmasi 1 ml substrat bilan aralashtirilib, 37°C da 30 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Reaksiya 3,5-dinitrosalitsil kislotasi (DNS) reaktivi qo‘shish orqali to‘xtatildi.

Aralashma qaynoq suv hammomida 10 daqiqa davomida qizdirildi, bunda qaytaruvchi shakarlar (N-asetilglukozamin) DNS bilan reaksiyaga kirishib rang hosil qiladi. Sovutilgandan so‘ng eritma sentrifugatsiya qilindi va supernatantning absorbtsiyasi 540 nm da o‘lchandi.

Xitinaza faolligi standart N-asetilglukozamin eritmalari asosida hisoblab chiqildi. Bir birlik ferment faolligi 1 daqiqada 1 μmol qaytaruvchi shakar hosil qiluvchi ferment miqdori sifatida aniqlanadi.

Amilaza faolligini aniqlash

Zamburug‘ izolyatlarining amilolitik faolligi DNS assay asosida baholandi. Ushbu metod kraxmalning fermentativ parchalanishi natijasida hosil bo‘ladigan qaytaruvchi shakarlarni aniqlashga asoslangan.

Reaksiya aralashmasiga 0,5 ml ferment ekstrakti va 0,5 ml 1% eruvchan kraxmal eritmasi qo‘shilib, 40°C da 15 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Reaksiya DNS reaktivi qo‘shish orqali to‘xtatildi va aralashma qaynoq suv hammomida 5–10 daqiqa davomida qizdirildi.

Sovutilgandan so‘ng eritma distillangan suv bilan suyultirildi va absorbtsiya 540 nm da o‘lchandi. Maltosa standart eritmalari asosida kalibrovka grafigi tuzilib, ferment faolligi hisoblab chiqildi.

Bir birlik amilaza faolligi 1 daqiqada 1 μmol maltosa ekvivalentidagi qaytaruvchi shakar hosil qiluvchi ferment miqdori sifatida aniqlanadi.

Sellulaza ishlab chiqarish

Izolyatlarning sellulozani parchalash qobiliyatini aniqlash uchun selluloza Kongo qizil agar ozuqa muhitidan foydalanildi. Muhit pH qiymati 6,8 ga sozlandi. Petrilar 30 °C haroratda 48 soat davomida inkubatsiya qilindi. Inkubatsiyadan so‘ng koloniyalar atrofida va tagida hosil bo‘lgan tozalangan zonalar fermentativ selluloza parchalanishining indikatori sifatida baholandi (Gupta et al., 2012). Sellyulolitik fermentlarning faolligi tegishli substratlar (Na-KMTS, filtr qog‘ozi, sellobioza) bilan o‘zaro ta’siri natijasida hosil bo‘lgan qaytariluvchi qandlar miqdorini o‘lchash orqali Mandels va Weber usuli bo‘yicha aniqlandi (Mandels et al., 1969). Probirkalarga substrat va ferment (kultural suyuqlik) aralashmasi solinib, 50 °C haroratda suv hammomida inkubatsiya qilindi. So‘ngra aralashmaga 1,0 ml Shomodi reaktivi qo‘shilib, 20 daqiqa davomida qaynab turgan suv hammomida ushlab turildi. Keyin sovuq suvda sovitilib, 1,0 ml Nelson reaktivi qo‘shildi va yaxshilab aralashtirildi. Har bir namuna 25 ml hajmli o‘lchov kolbasiga ko‘chirilib, distillangan suv bilan belgilangan hajmgacha

yetkazildi. Nazorat sifatida 0,1 M natriy atsetat buferi (pH 5,5) ishlatildi. Qaytariluvchi moddalarning optik zichligi SPEKOL 1300 spektrofotometrida 530 nm to‘ lqin uzunligida o‘ lchandi. Qaytariluvchi qandlar konsentratsiyasi glyukoza bo‘ yicha tuzilgan kalibrlovchi grafik asosida aniqlandi. Sellyulaza fermenti faolligining bir birligi tajriba sharoitida 1 mg glyukozaga ekvivalent qaytariluvchi modda hosil bo‘ lishiga ta’sir etuvchi ferment miqdori sifatida qabul qilindi.

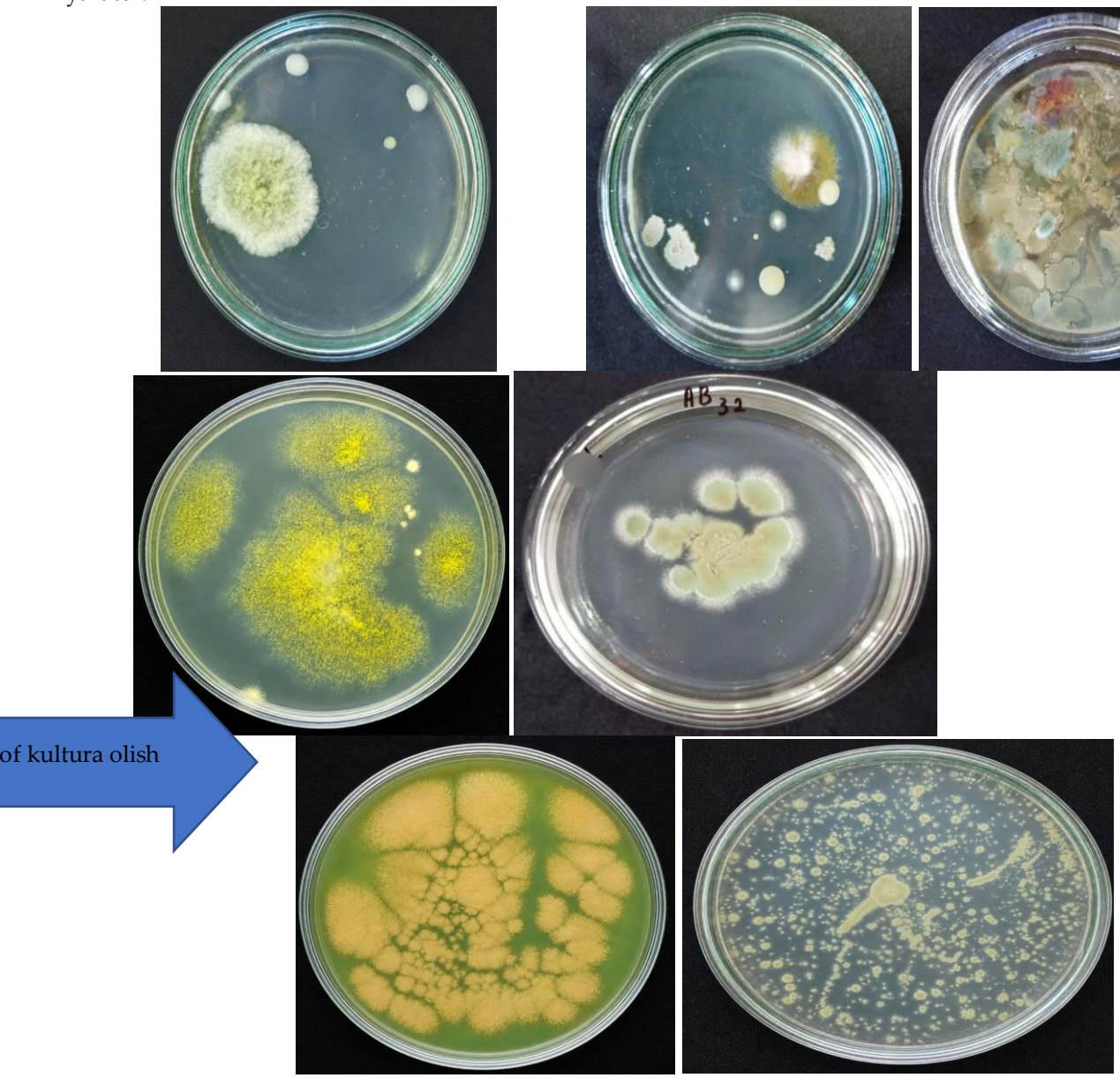
3.Natijalar

3.1. Rizosfera zamburug‘ larni ajratib olish

Laboratoriya sharoitida rizosfera tuprog‘ i namunalaridan zamburug‘ larni ajratib olish uchun standart mikrobiologik usullar qo‘ llanildi. Xususan, namunalar ketma-ket suyultirish (serial dilution) usuli orqali tayyorlanib, ozuqa muhitlariga (PDA — Potato Dextrose Agar) ekildi. Inkubatsiya jarayonidan so‘ ng hosil bo‘ lgan turli morfologik tipdagi koloniyalar tanlab olinib, qayta ekish yo‘ li bilan sof kulturaga keltirildi (1-rasm).

O‘ tkazilgan izolyatsiya ishlari natijasida jami 11 ta rizosfera zamburug‘ izolyati muvaffaqiyatli ajratib olindi. Ularning taqsimoti o‘ simlik turlari bo‘ yicha quyidagicha bo‘ ldi: *Haloxylon aphyllum* rizosferasidan 4 ta, *Halocnemum strobilaceum* rizosferasidan 5 ta hamda *Halostachys belangeriana* rizosferasidan 2 ta izolyat ajratildi.

Ajratib olingan zamburug‘ izolyatlari kelib chiqish manbaiga muvofiq shartli ravishda markalandi: Haloxylon aphyllum dan olingan izolyatlar XB35, XB36, XB38, XB39, Halocnemum strobilaceum dan olinganlar AB11-2, AO21-2, AB21-1, AB32, AB35 hamda Halostachys belangeriana dan olinganlar AN3, AN23 deb belgilandi. Bunday tizimli belgilash keyingi bosqichlarda izolyatlarni taqqoslash, ularning fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini baholashda qulaylik yaratdi.



1-rasm. Ozuqa muhitga ekilgan namunalardan sof zamburug‘ kulturasini olish

3.2. Ajratilgan zamburug‘ izolyatlarining galotolerantlik xususiyatini aniqlash

Galofit o‘ simliklar rizosferasidan ajratib olingan 11 ta zamburug‘ izolyatining turli tuzlar — natriy xlorid (NaCl), kaliy xlorid (KCl), magniy xlorid ($MgCl_2$), natriy sulfat (Na_2SO_4) va magniy sulfat ($MgSO_4$) muhitidagi o‘ sish xususiyatlari kompleks ravishda o‘ rganildi. Tadqiqotning asosiy maqsadi izolyatlarning turli ion tarkibiga ega tuzlarga nisbatan moslashuv darajasini aniqlash va ularning galotolerantlik xususiyatlarini baholashdan iborat bo‘ ldi.

NaCl muhitidagi o‘ sish xususiyatlari

NaCl muhitida barcha izolyatlar 5% konsentratsiyalarda faol o‘ sish qobiliyatini namoyon etdi. Bu natija ularning tabiiy sho‘ r muhitga moslashganligini ko‘ rsatadi. 10% NaCl konsentratsiyasida izolyatlar o‘ rtasida differensiallik kuzatilib, AO21-2, AN3, XB35 va XB38, XB39, AB21-1, AB32 va AB35 izolyatlari o‘ sishni davom ettirdi. 15% konsentratsiyada esa AN3, XB38, AB32 va XB35 izolyatlari o‘ sishda davom etganligi qayd etildi, bu esa ularning yuqori galotolerantlik darajasiga ega ekanligini ko‘ rsatadi. Ammo, bu izolyatlar 20% konsentratsiyadagi ozuqa muhitga ekilganda, hech qaysi izolyat o‘ sish kuzatilmadi.



2-rasm. Zamburug‘ izolyatlarining galotolerantligi.

NaCl ning nisbatan past ingibir ta’siri uning galofit muhitda keng tarqalganligi bilan izohlanadi. Adabiyotlarda qayd etilishicha, ko‘ plab zamburug‘ lar, ayniqsa Aspergillus va Penicillium avlodlariga mansub vakillar, NaCl ga nisbatan yuqori tolerantlikka ega.

KCl muhitidagi o‘ sish xususiyatlari

KCl muhitida ham o‘ sish tendensiyasi NaCl ga yaqin bo‘ ldi. 5% konsentratsiyalarda barcha izolyatlar o‘ sdi, 10% da esa AO21-2, AN3, XB35 va XB38, XB39, AB32 va AB35 izolyatlari o‘ sishni saqlab qoldi. Biroq 15% konsentratsiyada AN3, XB38, XB35 va AB32 izolyatlarida o‘ sish kuzatildi.

Bu natijalar K^+ ionining hujayra metabolizmidagi muhim roliga qaramay, uning yuqori konsentratsiyasi ion gomeostazini buzishini ko‘ rsatadi.

$MgCl_2$ muhitidagi o‘ sish xususiyatlari

$MgCl_2$ muhitida zamburug‘ larning o‘ sish ko‘ rsatkichlari keskin pasaydi. Barcha izolyatlar 2% gacha o‘ smadi, 5% konsentratsiyada esa faqat AN3, XB39, va AB32 izolyatlari o‘ sishni saqlab qoldi. Aksariyat izolyatlar ushbu bosqichda o‘ sishni to‘ xtatdi. 8% konsentratsiyada esa faqat AN3 va XB39 izolyatlari o‘ sishda davom etdi.

Mg^{2+} ionining ikki valentli bo‘ lishi uning hujayra devori va membrana tizimlariga kuchli ta’sir ko‘ rsatishini bildiradi. Bu ion hujayra ichidagi suv balansini buzadi va ferment faoliyatini susaytiradi.

Na_2SO_4 muhitidagi o‘ sish xususiyatlari

Na_2SO_4 muhitida eng keskin ingibitor ta’sir kuzatildi. 2% konsentratsiyada faqat AN3, XB39, AB35 va AB32 izolyatlari o‘ sishni namoyon etdi, qolgan izolyatlar esa o‘ sishni to‘ xtatdi. 5% da faqat AN3 izolyati o‘ sishda davom etdi, 8% va undan yuqori konsentratsiyalarda esa barcha izolyatlarda o‘ sish kuzatilmadi.

Sulfat ionlari hujayra uchun kuchli osmotik stress manbai hisoblanadi. Ma’lumotlarga ko‘ ra, sulfat tuzlari mikroorganizmlar uchun xlorid tuzlarga nisbatan ko‘ proq inhibitiv ta’sir ko‘ rsatadi.

$MgSO_4$ muhitidagi o‘ sish xususiyatlari

$MgSO_4$ muhitida Na_2SO_4 ga nisbatan biroz yuqoriroq tolerantlik kuzatildi. 2% da AB11-2, AN3, XB35, XB38, XB39, AB32 va AB35 izolyatlari o‘ sdi, 5% da AN3, XB39, va AB32 izolyatlari o‘ sishni davom ettirdi. 8% da faqat AN3 va AB32 izolyati o‘ sish qobiliyatini saqlab qoldi (1-jadval).

Bu holat Mg^{2+} ionining fermentlar faoliyatidagi rolini ko‘ rsatadi. Ta’kidlanishicha, magniy ko‘ plab fermentlar uchun kofaktor bo‘ lib xizmat qiladi.

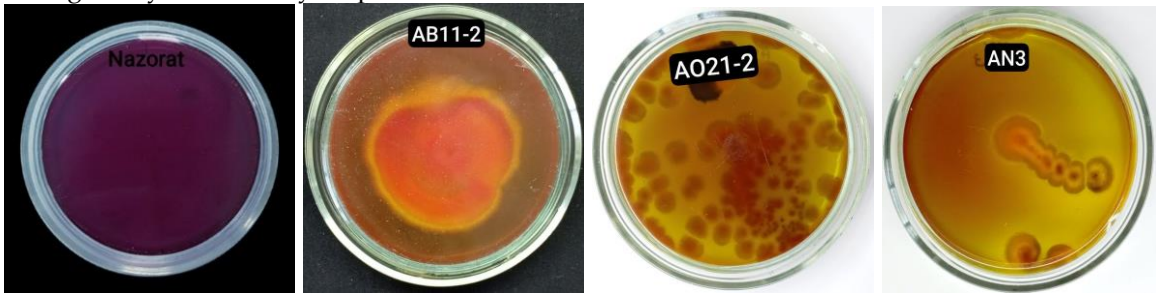
T/r	Izolyatlar	NaCl			KCl			$MgCl_2$			Na_2SO_4			$MgSO_4$		
		5 %	10 %	15 %	5 %	10 %	15 %	2 %	5 %	8 %	2 %	5 %	8 %	2 %	5 %	8 %
1	AB11-2	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
2	AO21-2	++	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
3	AN3	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	+	-	++	++	+
4	AN23	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	XB35	++	++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
6	XB36	++	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	XB38	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-	+	-	-
8	XB39	++	++	++	++	++	+	++	++	+	++	-	-	+	+	-
9	AB21-1	++	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
10	AB32	++	++	++	++	++	++	++	+	-	+	-	-	++	++	+
11	AB35	++	++	++	++	++	-	+	-	-	++	-	-	++	-	-

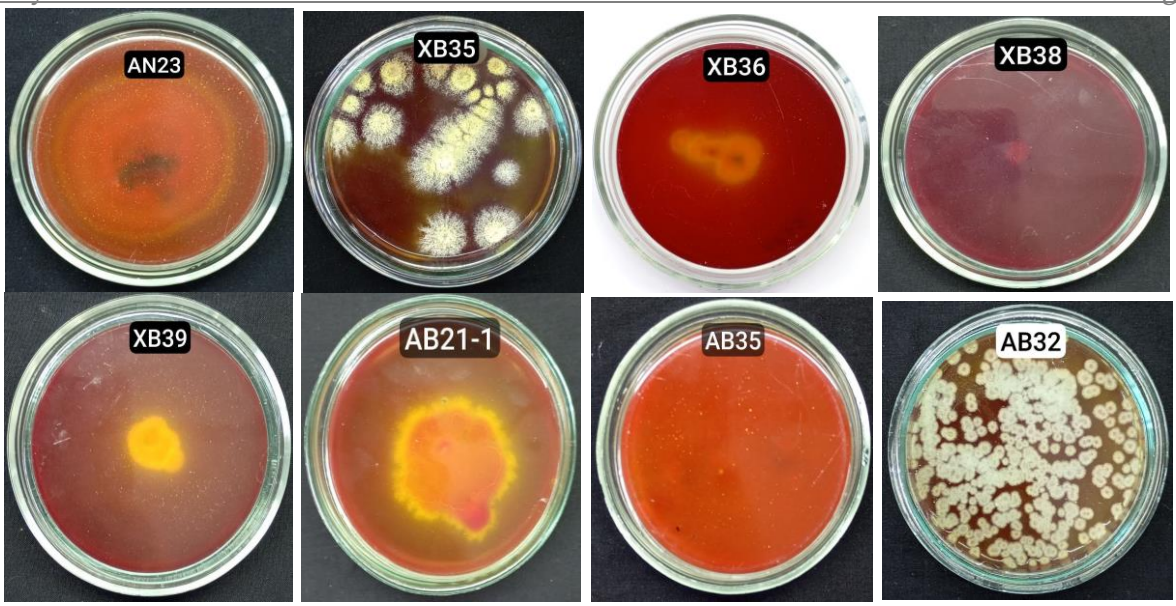
1-jadval. Ajratib olingan zamburug‘ larning galotolerantlik jadvali. Izoh: Yuqori faollikka ega bo‘ lgan turlar (++), o‘ rtacha faollikka ega bo‘ lgan turlar (+), faollikka ega bo‘ lmagan turlar (-).

3.3. Endofit zamburug‘ larining fosfat mobilizatsiya qilish xususiyatini o‘ rganish

Fosfor o‘ simliklarning o‘ sishi, rivojlanishi va hosildorligi uchun zarur bo‘ lgan asosiy ozuqa elementlaridan biridir. Global dehqonchilik amaliyotida sintetik fosforli o‘ g‘ itlardan foydalanish tobora ortib bormoqda, biroq fosforning o‘ simliklar tomonidan o‘ zlashtirilishi ko‘ p jihatdan tuproqdagi mikrobial jamoalarning faolligiga bog‘ liq. Ayniqsa, zamburug‘ lar erimaydigan fosfat birikmalarini eriydigan shaklga o‘ tkazish va ularni mineralizatsiya qilishda muhim rol o‘ ynaydi. Fosforni erituvchi zamburug‘ lar tuproqdagi umumiy zamburug‘ lar populyatsiyasining taxminan 0,1–0,5 % ini tashkil etadi. Ular orasida rizosfera zamburug‘ lar fosfatni o‘ zlashtirish jarayonida alohida ahamiyatga ega. Tahlillar natijasida izolyatlarning 4 tasi (36,3%) yuqori darajada (+++), 3 tasi (27,2%) o‘ rtacha (++) va 3 tasi (27,2%) past fosfor mobilizatsiya qilish qobiliyatiga ega ekanligi (+) aniqlandi.

Olingan natijalardan (3-rasm) shu ma’lumki ajratib olingan 11 ta izolyatning 36,3% i yani 4 ta AB11-2, AO21-2, AN3 va AB21-1 izolyatlari boshqalariga qaraganda yuqori faollik berdi. Bu izolyatlar orasida eng yuqori ko‘ rsatgichni AO21-2 va AN3 zamburug‘ izolyatlari nomoyon qildi.





3-rasm. Galofit zamburug‘ larning nazoratga nisbatan fosfat mobilizatsiya qilish xususiyati.

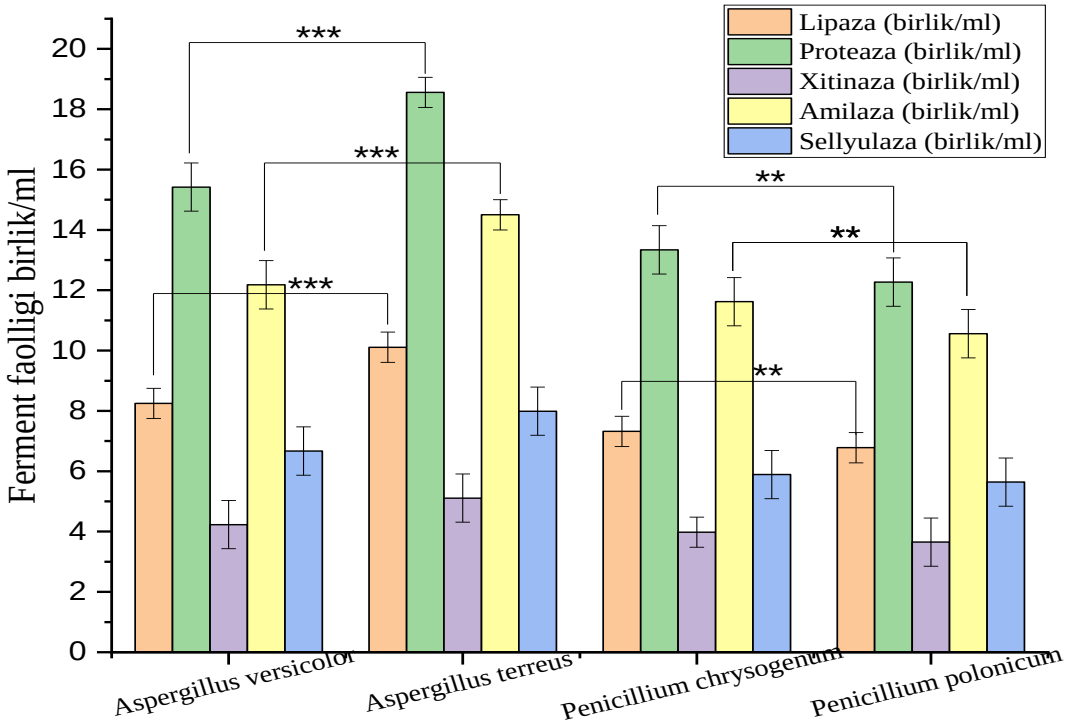
Faol izolyatlarda koloniyalar atrofida hosil bo‘ lgan shaffof zonalar trikalsiy fosfatning mikroorganizmlar tomonidan organik kislotalar ajralishi natijasida erishi bilan izohlanadi. Brom krezol binafshasi indikatori yordamida kuzatilgan rang o‘ zgarishi esa muhitning kislotalanishini tasdiqlab, fosfat mobilizatsiya mexanizmining biokimyoviy asosini ko‘ rsatadi.

3.4 Yuqori faollikka ega zamburug‘ shtammlarining ferment faolligini tekshirish

Yuqori biologik faollikka ega bo‘ lgan izolyatlar molekulyar-genetik usullar asosida identifikatsiya qilinib, ularning taksonomik mansubligi AB32 – *Penicillium polonicum*, AN3 – *Penicillium chrysogenum*, XB35 – *Aspergillus terreus*, XB38 – *Aspergillus versicolor* turlariga tegishli ekanligi aniqlandi va ular istiqbolli biotexnologik obyektlar sifatida tavsiya etildi.

Ajratilgan zamburug‘ izolyatlarining fermentativ faolligi turli substratlar asosidagi selektiv ozuqa muhitlarida kompleks tarzda baholandi. Sellyulolitik faollik Carboxymethyl cellulose (CMC) qo‘ shilgan muhitda, amilolitik faollik kraxmalli muhitda, proteolitik faollik kazein (sut) asosidagi muhitda hamda lipolitik faollik tributirin yoki Tween qo‘ shilgan muhitlarda aniqlanib, inkubatsiyadan so‘ ng mos indikatorlar (Kongo-qizil, Lugol eritmasi va boshqalar) yordamida gidroliz zonalari vizualizatsiya qilindi. Ferment ishlab chiqarish darajasi gidroliz zonasi diametrining koloniya diametriga nisbati — enzimatik indeks (EI) orqali miqdoriy baholandi. Mazkur ko‘ rsatkich mikroorganizmlarning substratni parchalay olish intensivligini nisbiy tarzda aks ettiruvchi muhim parametr bo‘ lib, u izolyatlarning metabolik faolligi va ekologik funksional potensialini baholashda keng qo‘ llaniladi.

Tadqiqot natijalariga ko‘ ra, barcha izolyatlar lipaza, proteaza, xitinaza, amilaza va sellyulaza fermentlarini sintez qilish qobiliyatiga ega ekanligi aniqlangan bo‘ lsa-da, ularning faollik darajalari tur va ferment turiga qarab sezilarli darajada farq qilgan. (12-rasm)



4-rasm. Faol shtammlarning ferment faolligi.

Olingan ma'lumotlarga ko' ra, *Aspergillus terreus* barcha fermentlar bo' yicha eng yuqori faollikni namoyon etib, yetakchi izolyat sifatida ajralib turdi. Ushbu turda lipaza (10.11 ± 0.8 birlik/ml), proteaza (18.56 ± 1.3 birlik/ml), xitinaza (5.11 ± 0.4 birlik/ml), amilaza (14.5 ± 1.0 birlik/ml) va sellyulaza (7.99 ± 0.6 birlik/ml) ko' rsatkichlarining yuqoriligi uning keng substratlarni parchalay olish qobiliyati va yuqori metabolik faolligini ko' rsatadi. Bu holat *Aspergillus terreus* ning organik moddalarning biodegradatsiyasi va sanoat fermentlari ishlab chiqarishda istiqbolli obyekt ekanligini tasdiqlaydi.

Xulosa

Tadqiqot davomida 3 ta galofit o' simlik rizosferasidan jami 11 ta galofit zamburug' izolyati ajratib olindi hamda ular laboratoriya sharoitida sof kulturagacha tozalandi. Ajratib olingan izolyatlarning galotolerantlik xususiyatlari turli tuzlar (NaCl, KCl, $MgCl_2$, Na_2SO_4, $MgSO_4$) ishtirokidagi muhitlarda o' rganilib, AN3, XB38 va XB39 izolyatlari yuqori konsentratsiyadagi tuzli muhitlarda ham faol o' sishni ko' rsatib, yuqori galotolerant izolyatlar sifatida baholandi. Izolyatlarning fosfor mobilizatsiya qilish xususiyati aniqlanganda, AN3, AO21-2, AB21-1 va AB11-2 izolyatlari yuqori darajada, AN23, XB39, va AB32 izolyatlari o' rta darajada faollik namoyon etgani qayd etildi. O' rganilgan zamburug' izolyatlari orasida ferment ishlab chiqarish darajasi sezilarli farq qilgan bo' lib, eng yuqori umumiy faollik *Aspergillus terreus* da kuzatildi (lipaza 10.11 ± 0.8, proteaza 18.56 ± 1.3, xitinaza 5.11 ± 0.4, amilaza 14.5 ± 1.0 va sellyulaza 7.99 ± 0.6 birlik/ml). *Aspergillus versicolor* nisbatan yuqori, ammo undan pastroq ko' rsatkichlarni (lipaza 8.25 ± 0.6; proteaza 15.42 ± 1.1; amilaza 12.18 ± 0.9 birlik/ml) namoyon etdi, *Penicillium chrysogenum* va *Penicillium polonicum* izolyatlarida esa ferment faolligi pastroq (mos ravishda proteaza 13.34 va 12.27 birlik/ml diapazonda) qayd etildi. Umuman, barcha izolyatlarda proteaza (12.27–18.56 birlik/ml) va amilaza (10.56–14.5 birlik/ml) eng yuqori, xitinaza (3.65–5.11 birlik/ml) esa eng past faollikni ko' rsatdi. Natijalar asosida Aspergillus terreus yuqori ferment ishlab chiqarish qobiliyati bilan ajralib, biotexnologik qo' llanish uchun eng istiqbolli izolyat sifatida baholandi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Yang, J., Kloepper, J.W., Ryu, C.M. (2009). Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. Trends in Plant Science.

2. Song J, Chen M, Feng G, et al. Effect of salinity on growth, ion accumulation and the roles of ions in osmotic adjustment of two populations of Suaeda salsa. Plant and Soil, 2009; 314(1-2):133-141.

3. Fan H, Dong K H, Hou Y P, et al. Effect of NaCl Stress on Ultrastructure of Halophytes Artemisia anethifolia. Acta Agrestia Sinica, 2011; 19(3): 482-486.

4. Balnokin Y V, Kurkova E B, Myasoedov N A, et al. Structural and Functional State of Thylakoids in a Halophyte Suaeda altissima before and after Disturbance of Salt–Water Balance by Extremely High Concentrations of NaCl. Russian Journal of Plant Physiology, 2004; 51(6): 815-821.

5. Sheoran, P., Basak, N., Kumar, A., Yadav, R. K., Singh, R., Sharma, R., et al. 2021

6. Toppo, P., Jangir, P., Mehra, N., Kapoor, R., & Mathur, P. Bioprospecting of endophytic fungi from medicinal plant Anisomeles indica L. for their diverse role in agricultural and industrial sectors //Scientific Reports. – 2024. – Т. 14. – №. 1. – С. 588.

7. M. R. Etesami & A. Maheshwari Role of microbes in saline soils Frontiers in Microbiology (WoS) 2018

8. Nipuni Mayadunna, Samantha C. Karunarathna, Suhail Asad, Steven L. Stephenson, Abdallah M. Elgorban, Salim Al-Rejaie, Jaturong Kumla, Neelamanie Yapa, Nakarin Suwannarach. Isolation of Phosphate-Solubilizing Microorganisms and the Formulation of Biofertilizer for Sustainable Processing of Phosphate Rock. Life 2023, 13(3), 782

9. Malleswari, D. and Bagyanarayan, G. (2013). In vitro screening of rhizobacteria isolated from the rhizosphere of medicinal and aromatic plants for multiple plant growth-promoting activities. J. Microbial. Biotechnol. Rev., 3(1):84-91.

10. Gupta, P.; Samant, K. and Sahu, A. (2012). Isolation of cellulase-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. Intl. J. Microbiol., pp:1-5.).

11. Mandels M., Weber J. The production of cellulases // Adv. Chem. Ser. –1969. -V. 95. –P. 391–413