

**DORIVOR O'SIMLIKDAN PROBIOTIK XUSUSIYATLI ENDOFIT
BAKTERIYALARNI AJRATISH VA BACILLUS
ENDOPHYTICUSNI CHUQUR TAVSIFLASH.**

Shamsiyeva Sharofat Hasan qizi

Milliy universitet Biologiya va ekologiya fakulteti biotexnologiya 2 kurs
magistr

Annotatsiya. Ushbu ilmiy maqolada dorivor o'simliklarning rizosfera va endofitik to'qimalaridan probiotik xususiyatga ega mikroorganizmlarni ajratib olish, ularning morfologik, biokimyoviy va fiziologik belgilar asosida batafsil tavsiflash hamda *Bacillus endophyticus* shtammiga xos o'ziga xos xususiyatlarni chuqur tahlil qilish maqsad qilingan. Tadqiqotda o'simlik namunalarini steril sharoitda yig'ish, yuzaki sterilizatsiya qilish, to'qimalarni homogenizatsiya qilish va selektiv o'stirish muhitlarida bakteriyalarni ajratish bo'yicha mikrobiologiyaning zamonaviy standart protokollaridan foydalanildi.

Kalit so'zlar. dorivor o'simliklar, endofit bakteriyalar, probiotik xususiyatlar, rizosfera va endosfera mikrobiotasi, o'simlik–mikroorganizmlar o'zaro ta'siri, ***Bacillus endophyticus***, morfologik va biokimyoviy tavsif, fiziologik xususiyatlar, fermentativ faollik, kislota va o't tuzlariga chidamlilik, antagonistik faollik, mikrobiologik identifikatsiya, biologik faol shtammlar

Abstract. This scientific article aims to isolate microorganisms with probiotic properties from the rhizosphere and endophytic tissues of medicinal plants, to characterize them in detail based on morphological, biochemical and physiological characteristics, and to analyze in depth the

specific properties of the *Bacillus endophyticus* strain. The study used modern standard microbiology protocols for collecting plant samples under sterile conditions, surface sterilization, tissue homogenization, and isolation of bacteria in selective culture media.

Keywords: medicinal plants, endophytic bacteria, probiotic properties, rhizosphere and endosphere microbiota, plant-microorganism interactions, *Bacillus endophyticus*, morphological and biochemical characteristics, physiological properties, enzymatic activity, resistance to acid and bile salts, antagonistic activity, microbiological identification, biologically active strains

Ajratilgan mikroorganizmlar morfologik (koloniya va hujayra shakli), Gram bo'yash, sporogenez, katalaza va oksidaza reaksiyalari orqali tahlil qilindi. Fermentativ faollik API test tizimlari yordamida baholandi. Probiotik xususiyatlar pH 2.0–3.0 sharoitida kislotaga chidamlilik, 0.3–0.5% safro tuzlariga barqarorlik, autoagregatsiya koeffitsienti va patogenlarga nisbatan antagonistik faollik orqali tekshirildi.

Natijalar dorivor o'simliklarda probiotik potentsialga ega *Bacillus*, *Lactobacillus* va *Enterococcus* vakillarining mavjudligini ko'rsatdi. Ayniqsa *Bacillus endophyticus* shtammi metabolik faollik, ekologik moslashuvchanlik, yuqori kislotaga va safroga chidamlilik hamda patogenlarga qarshi samarali inhibisiya zonalari bilan ajralib turdi. Tadqiqot dorivor o'simlik mikrobiotasining probiotik manba sifatidagi salohiyatini tasdiqlaydi va *Bacillus endophyticus*ning biofarmatsevtik hamda biotexnologik qo'llanmalardagi istiqbolini asoslaydi.

KIRISH

Soʻnggi yillarda dorivor oʻsimliklar mikrobiotasi biologiya, mikrobiologiya, biotexnologiya va farmatsevtika fanlarining eng jadal rivojlanayotgan yoʻnalishlaridan biriga aylandi. Oʻsimliklarning rizosfera va endofit toʻqimalarida yashovchi bakteriyalar nafaqat oʻsimlik fiziologiyasi va stressga moslashuv mexanizmlarida, balki inson salomatligi uchun muhim boʻlgan bioaktiv birikmalar sintezida ham muhim oʻrin tutadi. Endofit bakteriyalar koʻpincha metabolik faol, ekologik chidamli hamda antimikrob potensialga ega boʻlib, ularni tabiiy probiotik manba sifatida oʻrganishga qiziqish ortib bormoqda.

Probiotiklar tirik mikroorganizmlar boʻlib, yetarli miqdorda iste'mol qilinganda mezbon organizm salomatligiga foyda keltiradi. Anʼanaviy probiotiklar—*Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* va *Enterococcus* vakillari—oziq-ovqat sanoati, tibbiyot va veterinariya amaliyotida qoʻllanilib keladi. Biroq soʻnggi yillarda dorivor oʻsimliklarning endofitik bakteriyalarida anʼanaviy probiotiklardan koʻra **kuchli metabolik moslashuv, oshqozon-ichak sharoitiga chidamlilik va patogenlarga qarshi keng spektrli antagonistik xususiyatlar** kuzatilmoqda.

Dorivor oʻsimliklarning tanlanishiga sabab ularning kimyoviy tarkibi—flavonoidlar, fenolik kislotalar, saponinlar, alkaloidlar—boʻlib, aynan ushbu bioaktiv moddalar bakteriyalar uchun tabiiy selektiv bosim yaratadi. Natijada nafaqat stressga chidamli, balki yuqori darajada ekologik moslashgan endofit populyatsiyalar shakllanadi. Bu endofitlar orasida ***Bacillus*** vakillarining ustunligi koʻp bora ilmiy adabiyotlarda qayd etilgan. Ayniqsa ***Bacillus endophyticus*** — spora hosil qiluvchi, metabolik jihatdan faol, fenolik moddalarga bardoshli va probiotik

xususiyatlari bilan ajralib turuvchi bakteriya sifatida alohida e'tiborga ega.

Dorivor o'simlik endofitlarining probiotik manba sifatidagi ilmiy asoslari

Dorivor o'simliklarning endofit bakteriyalarini probiotik sifatida o'rganishning dolzarbligi quyidagi omillar bilan belgilanadi:

1. **Ekstremal sharoitlarda yashash qobiliyati.** Cho'l va yarim cho'l hududlarda o'sadigan dorivor o'simliklar mikrobiotasida yuqori issiqlik, suvsizlik, sho'rlanish va UV nurlanishiga moslashgan endofitlar uchraydi. Bu omillar bakteriyalarda kuchli adaptiv tizimlarning shakllanishiga olib keladi.
2. **Bioaktiv metabolitlar ishlab chiqarish.** Ko'plab endofit bakteriyalar laktik kislota, biosurfaktantlar, bakteriosinlar, sideroforlar va boshqa antimikrob metabolitlar sintez qiladi.
3. **Patogenlarga qarshi tabiiy antagonizm.** O'simlik-endofit simbiozi natijasida bakteriyalar o'simlikni himoya qilishga moslashib, kuchli antibakterial faollik namoyon etadi.
4. **Ichak sharoitiga moslashgan fiziologik belgilar.** Dorivor o'simlik endofitlarining ko'pchiligi pH 2–3 kislotaga, safro tuzlariga va osmolyaritet o'zgarishlariga tabiiy ravishda moslashgan bo'ladi.

Quyidagi jadval dorivor o'simliklardan ajratilgan endofitlarning probiotik xususiyatlari o'rtasidagi umumiy korelyatsiyani ko'rsatadi.

Jadval 1. Dorivor o'simlik endofitlarining asosiy probiotik xususiyatlari

Probiotik belgi	Dorivor o'simlik endofitlariga xos ko'rsatkich	Biologik ahamiyati
Kislotaga chidamlilik	60–90% tiriklik	Oshqozondan o'tish
Safro tuziga chidamlilik	50–80%	Ichakda yashash
Autoagregatsiya	30–55%	Epiteliyga yopishish
Antagonistik faollik	10–20 mm inhibisiya zonasi	Patogenlarni bostirish
Spora hosil qilish (<i>Bacillus spp.</i>)	Mavjud	Stressga chidamlilik

Bacillus endophyticusning tanlanish sababi

Ikkinchi fayldan olingan ma'lumotlarga ko'ra, *Bacillus endophyticus*:

- o'simlik ichki to'qimalarida yashovchi xavfsiz endofit;
- spora hosil qiluvchi, stressga juda chidamli;
- fermentativ faol;
- poligamma-glutamat kabi qimmatli biopolimerlar sintez qilishi mumkin;
- probiotik sifatida klinik xavfsiz guruhga mansub;
- o'simlik o'sishini rag'batlantiruvchi omillarga ega.

Shu sababdan maqolada *Bacillus endophyticus*ga alohida e'tibor qaratiladi.

Tadqiqotning maqsadi

Dorivor o'simliklarning rizosfera va endofitik to'qimalaridan probiotik xususiyatga ega bakteriyalarni ajratish, ularni morfologik va biokimyoviy belgilari asosida tavsiflash hamda *Bacillus endophyticus*ning probiotik potensialini chuqur ilmiy asosda baholash.

MATERIALLAR VA METODLAR .

Tadqiqot obyekti

Tadqiqot uchun dorivor o'simliklarning rizosfera tuprog'i, ildiz, poya va barg to'qimalaridan olingan namunalardan foydalanildi. Tanlangan o'simliklar sog'lom fiziologik holatda bo'lib, ularning har bir qismidan alohida steril sharoitda namunalar yig'ildi. Rizosfera tuprog'i ildizdan 1–3 sm masofadagi qatlamlardan olingan, endofitlar esa faqat sterilizatsiyadan muvaffaqiyatli o'tgan to'qimalardan ajratilgan.

Namuna yig'ish va saqlash

Namuna yig'ish davomida barcha asbob-uskunalar 70% etanol bilan dezinfeksiyalandi va har bir o'simlik uchun alohida steril paketlar ishlatildi. Namuna laboratoriyaga 4°C haroratda, 4 soatdan oshmagan vaqtda yetkazildi. Namunalarning tabiiy mikrobiota tarkibi buzilmasligi uchun ularni 12 soatdan ko'p saqlab turilmadi.

Yuzaki sterilizatsiya

Endofit bakteriyalarni tashqi epifitlardan ajratish uchun o'simlik to'qimalari quyidagi protokol asosida sterilizatsiya qilindi:

1. **70% etanol** — 1 daqiqa
2. **2% NaOCl** — 2–3 daqiqa
3. **Steril suv** — 3 marta yuvish

Sterillik nazorati uchun oxirgi yuvindi NA muhitiga ekildi va 24–48 soat inkubatsiyadan so'ng o'sish kuzatilmagan hollarda sterilizatsiya muvaffaqiyatli deb baholandi.

Homogenizatsiya va suyultirish

Sterillangan to'qimalar 0.5–1 sm segmentlarga bo'linib, PBS (pH 7.2) qo'shilgan holda steril havon (mortar) yordamida homogenizatsiya qilindi. 1 g to'qima uchun 9 mL PBS ishlatilib, 10:1 nisbatdagi standart suspenziya tayyorlandi. Homogenizatsiyadan so'ng suspenziya vortexda 30 soniya aralashtirildi va 10^{-1} – 10^{-6} oralig'ida 10-lik suyultirish qatori tayyorlandi.

Selektiv o'stirish muhitlari

Ajratilgan bakteriyalarni differensial aniqlash uchun bir nechta muhitlardan foydalanildi:

Muhit	Maqsadi
MRS agar	Lactobacillus spp. selektiv o'sishi
TSA (Tryptic Soy Agar)	Bacillus spp. uchun optimal o'sish muhiti
Nutrient Agar	Umumiy bakterial populyatsiyani aniqlash
MacConkey agar	Gram-manfiy bakteriyalarni differensial ajratish
Blood agar	Gemolitik faollikni baholash, xavfsizlik nazorati

Tegishli muhitlar 30–37°C haroratda 24–48 soat davomida inkubatsiya qilindi.

Morfologik va mikroskopik tahlil

24–48 soatdan so'ng koloniyalar rangi, shakli, relyefi, yuzasi va chegaralari bo'yicha tavsiflandi. Gram bo'yash orqali hujayra devori tipi aniqlandi. Mikroskopiya yordamida:

- hujayra shakli (tayoqcha, kokk, zanjirsimon shakl),

- spora hosil bo'lishi (*Bacillus* guruhini tasdiqlash uchun),
- hujayralarning joylashuv xarakteri baholandi.

Biokimyoviy identifikatsiya

Izolyatlarning fermentativ profili API 50 CH (uglevod fermentatsiyasi) va API ZYM (enzimatik faollik) tizimlari orqali aniqlangan. Qo'shimcha ravishda klassik biokimyoviy testlar bajarildi:

- **Katalaza testi**
- **Oksidaza testi**
- **Ureaza reaksiyasi**
- **Nitrat reduktaza faolligi**

Bu testlar *Bacillus*, *Lactobacillus* va *Enterococcus* guruhlarini aniqlashda asosiy farqlovchi belgilar sifatida xizmat qildi.

Probiotik xususiyatlarni baholash

Tadqiqotda probiotik mezonlar sifatida quyidagi ko'rsatkichlar qo'llanildi:

1. **Kislota chidamlilik** — suspenziyalar pH 2.0, 2.5 va 3.0 bulonida 2 soat inkubatsiya qilinib, tiriklik CFU/mL bo'yicha baholandi.
2. **Safro tuzlariga chidamlilik** — 0.3% safro muhitida 4 soat davomida o'sish darajasi OD600 orqali o'lchandi.
3. **Autoagregatsiya** — bakterial suspenziyaning 4 soatlik tinch holatdagi ajralish koeffitsienti hisoblandi.
4. **Antagonistik faollik** — *E. coli*, *S. aureus* va *C. albicans*ga nisbatan inhibisiya zonasi (mm) well-diffusion usuli bilan o'lchandi.

***Bacillus endophyticus*ga oid maxsus tahlillar**

Ikkinchi fayl ma'lumotlariga asoslanib *Bacillus endophyticus* izolyatlari uchun qo'shimcha tekshiruvlar o'tkazildi:

- spora hosil bo'lishining mikroskopik tasdiqlanishi;
- katalaza reaksiyasining kuchliligi;
- morfologik belgilarga xos yirik, quruq, markazida donador koloniya tuzilishi;
- ekologik stresslarga chidamlilik belgilarining kuzatilishi.

NATIJALAR

Dorivor o'simliklardan ajratilgan bakteriyalar morfologik xususiyatlari, Gram bo'yash va biokimyoviy belgilar asosida dastlabki tavsifdan o'tkazildi. Ajratilgan izolyatlar orasida Gram-musbat bakteriyalar ustunlik qildi. Ulardan **Bacillus**, **Lactobacillus** va **Enterococcus** guruhlari probiotik mezonlarga ko'ra eng istiqbolli deb topildi.

Jadval 1. Ajratilgan asosiy bakteriya guruhlarining qisqa taqsimoti

Bakteriya guruhi	Izolyatlar soni	Asosiy belgisi
Bacillus spp.	8	Gram (+), spora hosil qiladi
Lactobacillus spp.	6	Katalaza (–), fermentativ faol
Enterococcus spp.	3	Gram (+) kokklar
Boshqa izolyatlar	11	Gram (+/–), kam uchraydigan guruhlar

Probiotik mezonlar bo'yicha baholash natijasida **Bacillus** guruhiga mansub izolyatlar, ayniqsa **Bacillus endophyticus**, yuqori barqarorlik va antagonistik faollik ko'rsatdi.

Jadval 2. Bakteriyalarning probiotik mezonlar bo'yicha qisqacha natijalari

Ko'rsatkich	Bacillus gruppasi	Lactobacillus gruppasi	Enterococcus gruppasi
Kislotaga chidamlilik (pH 2.5)	75–90%	62–78%	55–70%
Safro tuziga chidamlilik (0.3%)	70–88%	58–72%	60–74%
Antagonistik faollik	Yuqori	O'rtacha	O'rtacha
Spora hosil qilish	Ha	Yo'q	Yo'q

Bacillus endophyticus eng yuqori chidamlilik va antagonistik faollik darajasini ko'rsatgan shtamlardan biri bo'lib, probiotik sifatida qo'llanishga mosligini tasdiqladi.

XULOSA

Ushbu tadqiqot dorivor o'simliklarning rizosfera va endofitik to'qimalarida yashovchi bakterial mikrobiotani o'rganish hamda ularning probiotik xususiyatlarini baholashga qaratildi. O'tkazilgan tahlillar natijasida o'simlikning ichki va tashqi ekologik muhitidan bir qator Gram-musbat va Gram-manfiy bakterial izolyatlar ajratildi. Morfologik, biokimyoviy va probiotik ko'rsatkichlarga asoslangan dastlabki tahlillar dorivor o'simliklarda probiotik sifatida qo'llanishi mumkin bo'lgan biologik faol mikroorganizmlar mavjudligini tasdiqladi.

Ajratilgan izolyatlar orasida **Bacillus** guruhiga mansub bakteriyalar, ayniqsa **Bacillus endophyticus**, ekologik

moslashuvchanligi, kislotaga va safro tuzlariga bardoshliligi, fermentativ faolligi hamda potentsial antagonistik xususiyatlari bilan ajralib turdi. Ushbu belgilarning mavjudligi *B. endophyticus*ni probiotik bakteriyalar uchun qo'yiladigan asosiy mezonlarga javob beruvchi istiqbolli shtamm sifatida baholash imkonini beradi. Dorivor o'simliklardan ajratilgan ushbu bakteriyaning probiotik va biotexnologik ahamiyati yuqori bo'lib, kelgusida biologik preparatlar, fitobiotiklar, o'simlik o'sishini rag'batlantiruvchi biosistemalar hamda funksional oziq-ovqat mahsulotlarini ishlab chiqishda qo'llanishi mumkin.

Umuman olganda, tadqiqot dorivor o'simlik mikrobiotasining tabiiy probiotik manba sifatidagi salohiyatini ko'rsatdi va *Bacillus endophyticus*ning amaliy mikrobiologiya uchun muhim mikroorganizmlardan biri ekanligini ilmiy asosda tasdiqladi. Kelgusidagi ishlarda ushbu shtammning genomik xarakteristikasi, bakteriosin sintezi va in vivo samaradorligini baholash alohida ilmiy yo'nalish sifatida ahamiyat kasb etadi.

ADABIYOTLAR.

1. Zhou, G., Luo, X., Tang, C., & Zhang, X. (2002). *Bacillus endophyticus* sp. nov., a novel endophytic bacterium isolated from cotton. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3), 1011–1015.
2. Jabborova, D., Wirth, S., Shurigin, V., et al. (2022). *Bacillus endophyticus* and arbuscular mycorrhizal fungi enhance the growth of ginger under salt stress. *ACS Omega*, 7(34), 30012–30021.
3. Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2008). *Bacterial endophytes: recent developments and applications*. *FEMS Microbiology Letters*, 278(1), 1–9.

4. Santoyo, G., Moreno-Hagelsieb, G., del Carmen Orozco-Mosqueda, M., & Glick, B. R. (2016). *Plant growth-promoting bacterial endophytes*. Microbiological Research, 183, 92–99.
5. Egamberdieva, D., Wirth, S., Bellingrath-Kimura, S. D., Mishra, J., & Arora, N. K. (2019). *Salt-tolerant plant growth-promoting bacteria for enhancing crop productivity under salt stress*. Frontiers in Microbiology, 10, 2791.
6. Hong, H. A., Huang, J. M., & Cutting, S. M. (2005). *The use of bacterial spores for probiotic purposes*. Microbiology, 151(1), 11–17.
7. Logan, N. A., & Vos, P. (2015). *Bacillus spp. and related genera*. In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (pp. 1–163). Wiley.