



**CYNARA SCOLIYMUS L O‘SIMLIGI ILDIZI HAMDA ILDIZ
ATROFIDAGI TUPROG‘IDA UCHROVCHI MIKROORGANIZMLARNI
MALDI-TOF MS ASOSIDA IDENTIFIKATSIYASI**

<https://doi.org/10.70728/a.series.v08.i02.071>

Bektemirova Farangiz Jamoliddin qizi

O‘zbekiston Milliy universiteti Jizzax filiali,

Biotexnologiya kafedrası magistranti

O‘ralov Abdumannon Iskandarovich

O‘zbekiston Milliy universiteti Jizzax filiali,

Biotexnologiya kafedrası mudiri

Sobirova Muqaddas Botirovna

O‘zbekiston Milliy universiteti Jizzax filiali,

Biotexnologiya kafedrası v.b. dotsenti

Annotatsiya. *Cynara scolymus L* ya’ni artishok, o‘simliklar dunyosida o‘zining oziq-ovqat, farmatsevtika va tibbiyot sohalaridagi foydali xususiyatlari bilan mashhur. Ushbu o‘simlikning rizosferasi, ya’ni ildiz atrofidagi mikrobiologik muhit, o‘simliklarning o‘sishi, rivojlanishi va kasalliklarga qarshi chidamliligiga katta ta’sir ko‘rsatadi. Shu bilan birga, artishokning rizosferasidagi mikroorganizmlar va o‘simlik o‘zaro aloqalari biotexnologik sohada yangi imkoniyatlarni ochish uchun muhim ahamiyatga ega. Bu sohada olib boriladigan tadqiqotlar, ayniqsa qishloq xo‘jaligida samaradorlikni oshirish va yangi biotexnologik texnologiyalarni ishlab chiqishda katta ahamiyatga ega. Ushbu tadqiqotda *Cynara scolymus L* o‘simligi ildizi va ildiz atrofidagi tuprog‘ida uchrovchi mikroorganizmlarni **MALDI-TOF MS** usuli asosida identifikatsiya qilish maqsad qilingan. Tuproq va ildiz namunalari klassik mikrobiologik usullar (bosqichli suyultirish) yordamida ajratilib, bir nechta mikroorganizmni sof kulturalari olindi. Ajratilgan izolyatlar morfologik, fiziologik hamda biokimyoviy tahlillaridan so‘ng MALDI-TOF MS tizimi orqali identifikatsiya qilindi. Natijalar rizosfera va ildiz bilan bog‘liq mikroorganizmlar tarkibida asosan *Bacillus*, *Pseudomonas* oilalariga mansub bakteriyalar ustunligini ko‘rsatdi. Ushbu mikroorganizmlar sho‘rlangan va qurg‘oqchil muhitga moslashgan bo‘lib, o‘simliklarning barqarorligini ta’minlashda muhim ahamiyat kasb etadi. Olingan natijalar biotexnologik maqsadlar uchun istiqbolli mikroorganizmlarni tanlashda ilmiy asos bo‘lib xizmat qiladi.

Kalit so‘zlar: *Cynara scolymus L*, *Bacillus subtilis*, rizosfera mikroorganizmlari, sho‘rlangan tuproq, *Pseudomonas*, identifikatsiya, MALDI-TOF MS, biotexnologiya.

Kirish. Rizosfera o‘simlik ildizlari atrofida yoki ularga tutashgan 2–80 mm tuproq chuqurligida tarqalgan mikroorganizmlar to‘plamidir, rizoplan esa bu o‘simlik ildizining tashqi yuzasi va unga bevosita yopishib yashovchi mikroorganizmlar (bakteriyalar, zamburug‘lar, aktinomitsetlar) joylashgan zona [1]. Rizosferada odatda yuqori darajadagi koordinatsiya va mikrobial faollik mavjud bo‘lib, ular o‘simliklarni zararli yoki salbiy abiotik va biotik stresslardan himoya qiladi. Rizosfera-rizoplan to‘plami o‘simlik ildizlaridan tuproq muhitiga ildiz ekssudasiyasi ta’sirida bo‘lgan ozuqaviy markaz bo‘lib qoladi [2]. Ajratilgan ekssudatlar asosiy tuproqqa nisbatan rizosferada turli xil mikroorganizmlarning ko‘payishini rag‘batlantiruvchi energiyaga boy metabolitlar bo‘lib xizmat qilishi mumkin[3]. Rizosferadagi ikkilamchi metabolik birikmalarning ko‘pligi ildiz yaqinidagi tuproq va o‘simlik mikroblari o‘rtasida signal aloqasini osonlashtirish uchun signal vazifasini bajarishi mumkin. Shuningdek, ildiz ekssudasiyasi asosan ma’lum atrof-muhit sharoitlarida belgilangan o‘simliklarda mikrobial dinamikasini, tuzilishini va funksiyalarini aniqlashi mumkin[4]. Asosan, azotni fiksatsiyalovchi bakteriyalar, endo-rizobakteriyalar va mikoriza zamburug‘lari rizosfera mikrobiomlarini hosil qilish uchun aniqlangan [5,6]. Ekssudat sekretiysasi darajasi mikrobial faollikni aniqlashi mumkin, shu bilan o‘simliklarning o‘sishi va boshqa fiziologik funksiyalarga ta’sir qiladi. Turli o‘simlik joylarida, ayniqsa o‘simlik ildizlari va tuproqlarida yashovchi mikrobiomlar o‘rganilgan va hujjatlashtirilgan bo‘lib, qishloq xo‘jaligi mahsuldorligini saqlab qolishda foydalanish mumkinligini ko‘rsatadi[7,8]. Tuproq mikrobial to‘plamlari o‘simliklarga ozuqa moddalarini olishga, kasalliklarga qarshi kurashishga va stressga chidamlilikni oshirishga yordam beradi[9]. Rizosfera-rizoplan mikrobial jamoalaridagi ko‘p tarmoqli tadqiqot qiziqishlari ularning funksional xilma-xilligini va ekinlar mahsuldorligini oshirish potentsialini aniqlashga yordam berishi mumkin. Bundan tashqari, yaqinda o‘simliklarning o‘sishi, rivojlanishiga hissa qo‘shish orqali ijobiy ta’sir ko‘rsatadigan tuproq-mikrob va o‘simlik-mikrob o‘zaro ta’siri o‘simliklarning oziqlanishini yaxshilashi aniqlangan. [10].

Bugungi kunga qadar turli xil tadqiqotlar o‘simliklarning oziqlanishi uchun o‘simliklarning o‘sishini rag‘batlantiruvchi xususiyatlarga ega mikoriza zamburug‘lari va rizobakteriyalar kabi foydali rizosfera mikrobiomlarini o‘rganishga qaratilgan[11,12].

O‘simliklarning 80% dan ortig‘ida tuproq fosforini o‘zlashtirish va o‘simlik ildizining o‘sishida katta foyda keltiradigan foydali arbuskulyar mikoriza zamburug‘lari mavjud. Tuproq-mikrob va o‘simlik-tuproq o‘zaro ta’sirini shakllantiruvchi yer osti sharoitida sodir bo‘ladigan biologik jarayonlar, o‘simlik-mikrob-tuproq teskari aloqasi (PMS) deb ataladi, o‘simliklarning mikrobial to‘plam tuzilishi va tuproq ozuqaviy moddalarini o‘zlashtirishida vositachilik qiluvchi asosiy omillar sifatida tan olingan[13]. Rizomikrobiom atrof-muhit sharoitidagi o‘zgarishlarga javob berish orqali o‘simliklarning

o‘shishiga va tuproq unumdorligini oshirishga hissa qo‘shadi, chunki ular yer osti va o‘simlik ildiz muhitidagi mikrobiomning tarkibini belgilaydi[14]. Atrof-muhit sharoitlariga qarab, rizosfera va rizoplada yashovchi mikrobiom xilma-xillik va funktsiyalar jihatidan strukturaviy jihatdan farqlarni ko‘rsatishi mumkin. Biroq, ildiz arxitekturasi, o‘simlik genotipi, rivojlanish bosqichlari, turlar, navlar, tuproq parametrlari va qishloq xo‘jaligi amaliyoti kabi omillar rizom tizimlaridagi mikrobial jamoalarga hissa qo‘shishi bilan bog‘liq deb hisoblanadi[15].

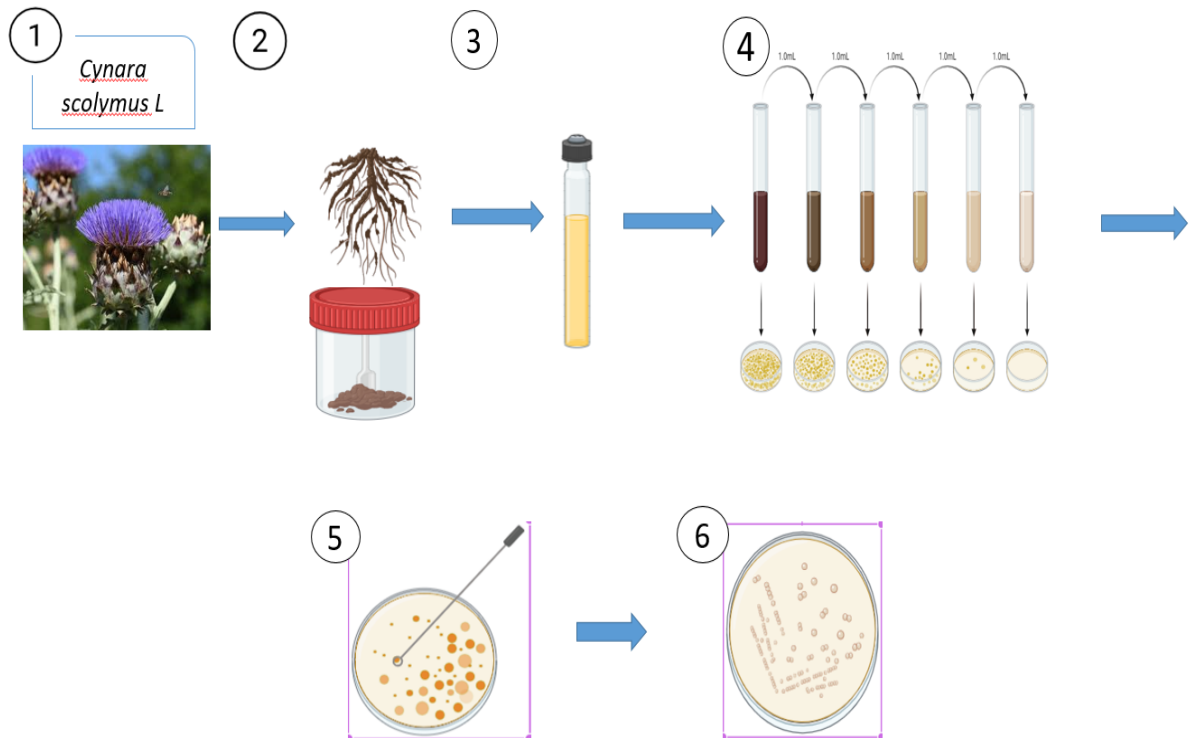
Tadqiqot metodologiyasi: Namunalar *Cynara scolymus L* o‘simligi ildiz rizosfera (25–30 sm chuqurlikda) qismidan olindi. Tuproq va ildiz namunalari 2025-yil dekabr oyida yig‘ib olindi. Namunalar O‘zbekiston Milliy Universiteti Jizzax Filiali tajriba uchaska maydonidan olinib, laboratoriyada tajribalar o‘tkazildi.

Tuproq va ildiz namunalari aseptik sharoitda olinib, steril plastik idishlarga solingan va qisqa muddatda laboratoriyaga yetkazilgan. Namunalar suyultirilib, ekish uchun tayyorlandi. Bakteriyalarni ajratib olish uchun oziqlantiruvchi agar (nutrient agar) va GPA muhitlari tanlandi. Ushbu tadqiqotda bakteriyalar tuproq namunalaridan ketma-ket suyultirish (serial dilution), chiziqli ekish (streak plate) usuli yordamida ajratib olindi.

GPA-universal ozuqa muhiti bo‘lib, bakteriya va zamburug‘lar o‘shishini ta‘minlaydi. Nutrient agar mikroorganizmlarni yetishtirish uchun mo‘ljallangan umumiy maqsadli oziqlantiruvchi muhit bo‘lib, u tez o‘suvchi bo‘lmagan (non-fastidious) organizmlarning keng doirasini qo‘llab-quvvatlaydi. Nutrient agar keng tarqalgan bo‘lib, u turli xil bakteriya va zamburug‘larni o‘stirish imkonini beradi hamda bakteriyalarning o‘shishi uchun zarur bo‘lgan ko‘plab oziq moddalarga ega

Seriyali suyultirish — bu eritmadagi moddaning bosqichma-bosqich suyultirilishidir. Ketma-ket suyultirishni amalga oshirish uchun yaxshi aralashtirilgan eritmada oz miqdor olinib, yangi idishga ko‘chiriladi va dastlabki eritmani suyultirish uchun qo‘shimcha suv yoki boshqa erituvchi qo‘shiladi. Olingan suyultirilgan namuna keyingi suyultirishlar uchun asos sifatida ishlatiladi. Ushbu jarayon bir necha marta takrorlanganda turli konsentratsiyadagi eritmalar hosil bo‘ladi. Muayyan tahlil uchun zarur bo‘lgan boshlang‘ich konsentratsiya va maqsadli diapazon suyultirish bosqichlarining soni va hajmini belgilaydi. Odatda, ketma-ket suyultirishlar 10 yoki 100 martalik bosqichlarda amalga oshiriladi. Ular dastlabki va yakuniy konsentratsiyalar nisbatlari bilan ifodalanadi. Biz har bir bosqichdagi suyultirilgan na‘munalarni ozuqa muhitiga ekdik va ulardan sof bakteriya kulturalarini ajratib oldik. Ekish jarayonida chiziqli ekish usulidan foydalandik. Chiziqli ekish usuli aralash kulturadan sof bakterial koloniyalarni ajratish uchun keng qo‘llaniladigan texnikadir. Ushbu tadqiqotda tuproq suspenziyasi oz miqdorda steril loop yordamida aseptik sharoitda olinadi. Inokulum oldindan quyilgan nutrient agar plastinkasi yuzasiga ketma-ket chiziqlar bilan surtiladi, bu orqali namuna bosqichma-bosqich suyultiriladi. Loop har bir chiziq orasida sterilizatsiya qilinadi, bu orqali kontaminatsiya oldi olinadi. Plastinkalar 37°C haroratda 24–48 soat davomida inkubatsiya qilinadi.

Inkubatsiyadan so‘ng, yaxshi ajralgan koloniyalar keyingi morfologik va biokimyoviy tahlil uchun tanlanadi. Ushbu usul individual bakterial hujayralarni ajratishni ta‘minlaydi va keyingi identifikatsiya uchun mos sof koloniyalarning o‘shishini imkonini beradi (1-rasm).

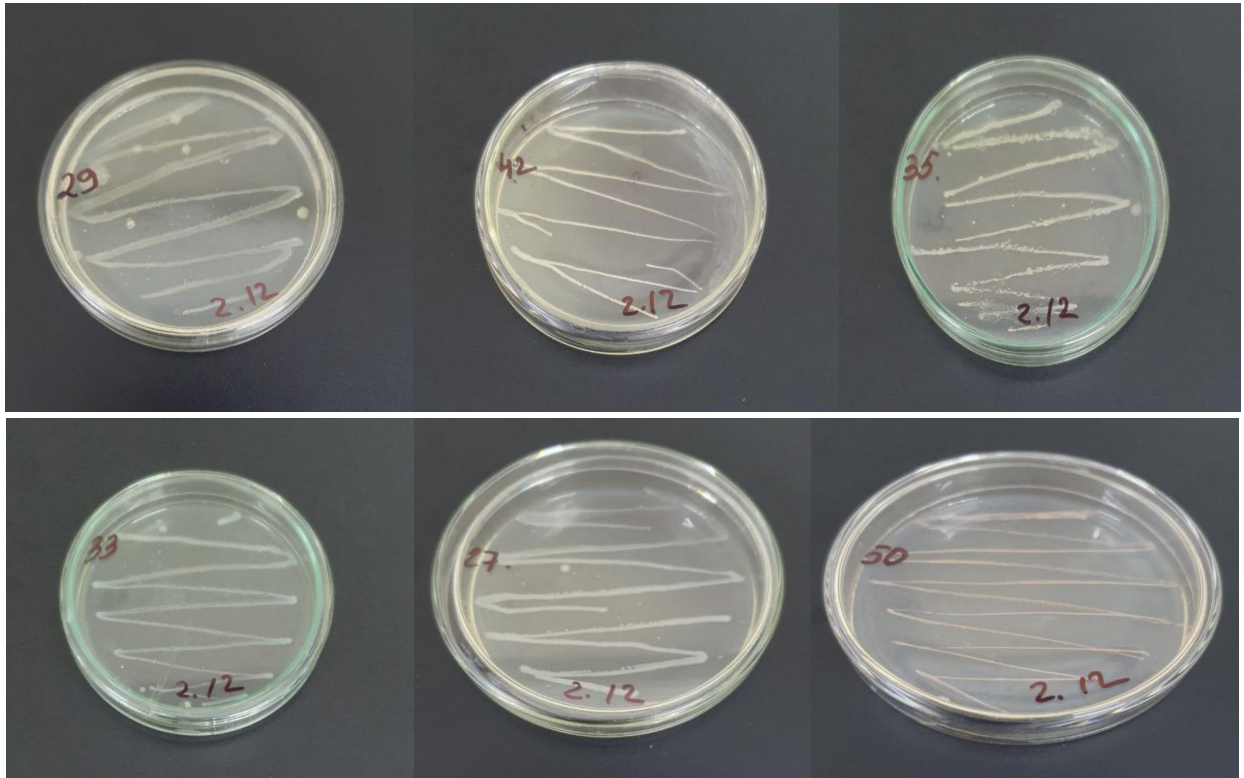


O‘simlik rizosferasidan sof kultura ajratib olish. 1-cynara scolymus L o‘simligi, 2-ildiz atrofidan olingan namuna, 3-suyultirilgan namuna, 4- kox usulida suyultirish, 5-ozuqa muhitiga ekish, 6-sos kultura.

Ajratib olingan mikroorganizmlar izolyatlari MALDI-TOF Mass Spectrometry EXS 2600 (Zybio) uskunasi yordamida identifikatsiya qilindi. Tadqiqot jarayonida sentrifuga, vortex aralashtirgich, tomizgichlar, shuningdek reagentlar to‘plami, distirlangan suv va 96 % li etanol ishlatildi. Identifikatsiya jarayonini amalga oshirish uchun oziqa muhitda o‘stirilgan toza va alohida koloniyalar tanlab olindi. 1,5 ml hajmli sentrifuga probirkalariga 300 mkl ultrasof suv solinib, 1–5 mg miqdordagi alohida koloniya qo‘shildi. Hosil bo‘lgan suspenziya to‘liq bir jinsli holatga kelguniga qadar vortex qurilmasida aralashtirildi. Shundan so‘ng probirkalarga 900 mkl suvsiz etanol qo‘shilib, yana aralashtirildi va 12 000 ayl/min tezlikda 2–3 daqiqa davomida sentrifugalandi. Sentrifugadan so‘ng supernatant qismi ehtiyotkorlik bilan olib tashlanib, qolgan cho‘kma (intakt qism) ustiga 20 mkl Microorganism lysate I reagenti qo‘shildi va yaxshilab aralashtirildi. Keyingi bosqichda 20 mkl Microorganism lysate II reagenti qo‘shilib, pipetka yordamida bir jinsli aralashma hosil qilindi. Olingan aralashma 2 daqiqa davomida sentrifuga qilindi. MALDI-TOF plastinkasi 96 % etil spirti bilan dezinfeksiya qilindi. Har bir namuna uchun 1 mkl miqdordagi supernatant plastinkaning mos katakchalariga tomizildi va xona haroratida quritildi. Namuna to‘liq qurigach, uning ustiga Matrix

solution reagenti tomizildi va yana quritildi. Tayyorlangan plastinka MALDI-TOF qurilmasiga joylashtirilib, mikroorganizmlar identifikatsiyasi amalga oshirildi.

Natijalar: Tadqiqot davomida *Cynara scolymus* L o'simligidan olingan tuproq namunalaridan jami 7 ta bakterial izolyat ajratib olindi. Izolyatsiya natijasida olingan koloniyalar morfologik jihatdan rang, shakl va o'lchamlari bo'yicha farqlanishi kuzatildi. Izolyatlarning identifikatsiyasi MALDI-TOF Mass-spektrometriya usuli yordamida amalga oshirildi. Tahlil natijalariga ko'ra, ajratib olingan mikroorganizmlar *Bacillus*, *Pseudomonas* avlodlariga mansub ekanligi aniqlandi (2-rasm).



Olingan natijalar.

Xulosa. Ushbu tadqiqot *Cynara scolymus* L o'simligi ildizi hamda uning rizosfera qismida uchraydigan mikroorganizmlarning tarkibini o'rganish va ularni MALDI-TOF Mass-spektrometriya usuli asosida aniq identifikatsiya qilishga bag'ishlandi. Tadqiqot davomida klassik mikrobiologik usullar yordamida jami yettita sof bakterial izolyat ajratib olindi ular *Bacillus atrophaeus*, *Bacillus lichiniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas korrensis*, *Pseudomonas choraraphis*, *Serratia rubidaea*. Bu mikroorganizmlar turli sho'rlik darajasidagi ozuqa muhitlariga ekilib, bakteriyalarni sho'rli muhitda yashovchanligi tekshirildi. Bu orqali mikroorganizmlar sho'rlangan tuproqda o'simlikni o'sishi va rivojlanishiga ijobiy ta'sir ko'rsatishi aniqlanmoqda. Shu jumladan *Pseudomonas korensis* tuz stressiga yuqori bardoshlilikka ega, chunki u sho'rlangan tuproqda silikat va fosfatni parchalab, gibberellik kislota va organik kislotalarni (malat, sitrat va asetat) ishlab chiqarishi mumkin. *Bacillus* turiga mansub bir nechta turlar ko'plab o'simlik kasalliklarini bionazorat qilishda samarali ekanligi

aniqlangan . Bu turlar ildiz tizimlarini va atrofdagi tuproq qatlamini (rizosferani) kolonizatsiya qilish orqali o‘simlikka to‘g‘ridan-to‘g‘ri o‘sishga ijobiy ta’siri va uni fitopatogenlar tomonidan infeksiyadan himoya qilishi kuzatilgan.

Shuningdek bu ajratib olingan mikroorganizmlarni biotexnologik potentsiyali yuqori bo‘lib ulardan turli maqsadlarda samarali foydalanish mumkin.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Mwajita, M.R. Murage, H. Tani, A. Kahangi, E.M. Evaluation of rhizosphere, rhizoplane and phyllosphere bacteria and fungi isolated from rice in Kenya for plant growth promoters. *SpringerPlus* **2013**,2, 606. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
2. Vives-Peris, V. de Ollas, C.; Gómez-Cadenas, A.; Pérez-Clemente, R.M. Root exudates: From plant to rhizosphere and beyond. *Plant Cell Rep.* **2020**,39, 3–17. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
3. Odelade, K.A. Babalola, O.O. Bacteria, fungi and archaea domains in rhizospheric soil and their effects in enhancing agricultural productivity. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2019**, 16, 3873. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Zhalnina, K. Louie, K.B. Hao, Z.; Mansoori, N.; da Rocha, U.N. Shi, S.; Cho, H. Karaoz, U. Loqué, D. Bowen, B.P. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nat. Microbiol.* **2018**, 3, 470–480. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Adeleke, B.S. Babalola, O.O. Glick, B.R. Plant growth-promoting root-colonizing bacterial endophytes. *Rhizosphere* **2021**, 20, 100433. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
6. U, K.; Pieterse, C.M. Bakker, P.A. Berendsen, R.L. Beneficial microbes going underground of root immunity. *Plant Cell Environ.* **2019**, 42, 2860–2870. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Babalola, O.O. Adeleke B.S. Ayangbenro A.S. Whole genome sequencing of sunflower root-associated *Bacillus cereus*. *Evol. Bioinform.* **2021**, 17, 11769343211038948. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Ngoma, L. Esau, B. Babalola, O.O. Isolation and characterization of beneficial indigenous endophytic bacteria for plant growth promoting activity in Molelwane Farm, Mafikeng, South Africa. *Afr. J. Biotechnol.* **2013**, 12, 4104–4114. [[Google Scholar](#)]
9. Chen, Y. Ding, Q. Chao, Y. Wei, X. Wang, S.; Qiu, R. Structural development and assembly patterns of the root-associated microbiomes during phytoremediation. *Sci. Total Environ.* **2018**, 644, 1591–1601. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Li, X.; Lang, D. Wang, J. Zhang, W.; Zhang, X. Plant-beneficial *Streptomyces dioscori* SF1 potential biocontrol and plant growth promotion in saline soil within the arid and semi-arid areas. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2023**, 30, 70194–70212. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

11. Fasusi, O.A. Amoo, A.E. Babalola, O.O. Propagation and characterization of viable arbuscular mycorrhizal fungal spores within maize plant (*Zea mays* L.). *J. Sci. Food Agric.* **2021**, *101*, 5834–5841. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Sritongon, N. Boonlue, S. Mongkolthanaruk, W. Jogloy, S. Riddech, N. The combination of multiple plant growth promotion and hydrolytic enzyme producing rhizobacteria and their effect on Jerusalem artichoke growth improvement. *Sci. Rep.* **2023**, *13*, 5917. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
13. Hu, L. Robert, C.A. Cadot, S. Zhang, X. Ye, M.; Li, B. Manzo, D. Chervet, N.; Steinger, T.; Van Der Heijden, M.G. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota. *Nat. Commun.* **2018**, *9*, 2738. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
14. Tsunoda, T. van Dam, N.M. Root chemical traits and their roles in belowground biotic interactions. *Pedobiologia* **2017**, *65*, 58–67. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)]
15. Postma, J.A. Schurr, U. Fiorani, F. Dynamic root growth and architecture responses to limiting nutrient availability: Linking physiological models and experimentation. *Biotechnol. Adv.* **2014**, *32*, 53–65. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]