

**TUPROQDAGI FOSFATLARNI FAOL PARCHALOVCHI
BAKTERIYALARNI KUZGI BUG'DOY RIZOSFERASIDAN
AJRATIB OLISH**

¹*Yo'ldashev Abduvali Alisher o'g'li*

²*Tashbayev Sherzodbek Abdurasulovich*

Andijon davlat universiteti

Zoologiya va biokimyo kafedrası 2-kurs magistranti

Andijon davlat universiteti

Zoologiya va biokimyo kafedrası dotsenti Ph.D

Anotatsiya: Kuzgi bug'doy rizosferasidan ajratib olingan kulturalar nafaqat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, balki Rossiya tuproqlarida keng tarqalgan AlPO_4 va FePO_4 birikmali tuzlarni ham yuqori darajada parchalashi aniqlandi va buning natijasida o'simlikning fosforli oziqlanish imkoniyati yaxshilanadi. Tuproqning fosforlanishini yechishning samarali yo'llaridan biri qiyin parchalanuvchi fosforli birikmalarining mikrobiologik transformatsiyasi bo'lib hisoblanadi. Ayrim tuproq mikroorganizmlari o'zining hayot faoliyati davomida turli xil organik kislotalar va fermentlar ajratib chiqarib, tuproqda zahira holda o'rnashgan va o'simliklar uchun qiyin o'zlashtiriladigan fosforni parchalashda ishtirok etadi.

Kalit so'zlar: Kuzgi bug'doy, fosfor, tuproq mikroorganizmlari, organik kislotalar, *Bacillus subtilis*

Mikroorganizmlar vositasida fosfor elementining biologik parchlanishi tuproqning fosforli rejimiga elementning qaytarilishi deb tavsiflanadi. Bir tarafdin olib qaraganda, o'zlashtiriladigan tuproq fosfatlarining mikroorganizmlar vositasida bog'lanishi yuz bersa, ikkinchi tomondan esa, tuproqdagi qiyin parchalanuvchi fosforning mineral va organik birikmalarini mikroorganizmlar o'zlashtirishi natijasida fosfor kislotasining o'zlashtirilish darajasi ortadi va buning natijasida nobud bo'lgan mikroorganizmlarning hujayra tanasida mineralizatsiyalangan fosfor holda to'planadi.

Tuproqdagi organik moddalarning mikroorganizmlar yordamida biologik singdirilishi tufayli organik moddalarning parchalanishi sodir bo'ladi. Aniqlanishicha, o'simliklarning qoldiqlari va mahalliy o'g'itlarning parchalanishi natijasida tuproqda fosforning biologik singdirilishi ortadi va tuproqning fosforli rejimi yaxshilanadi. Ko'pchilik qishloq xo'jaligi mikrobiologlari va mikrobiolog-ekologlarni qiziqtiradigan asosiy masala, ayrim tuproq bakteriyalarining kam boyitilgan va sho'r mineral fosfatlarning, xususan, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ va gidroksilapatitning parchalanishidir [1, 2]. Fosforparchalovchi mikroorganizmlar asosida bioo'g'itlar tayyorlash va ular ajratgan kislotalar hamda boshqa almashinuv reaksiyalari ta'sirida tuproqdagi erimaydigan

fosfor birikmalarini o'zlashtiriladigan holga olib o'tish mumkin [3, 4, 5, 6]. *Burkholderia sp.* avlodining fosforparchalash xususiyatlarini va *Burkholderia cepacia* SS-A 174 shtamining esa $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ organik kislotalar hosil qilib parchalash xususiyatlarini o'rganish lozim. Mullan va uning hammualliflari fikriga ko'ra, *Burkholderia cepacia* tuproqning pH ko'rsatkichi past bo'lganda polifosfatlarni organik kislotalar yordamida parchalaydi [7, 8, 9, 10].

Fosforparchalovchi mikroorganizmlar yordamida erimaydigan tog' jinslari tarkibidagi fosfatlardan ortofosfatlarni ajratish, ularning fenotipiga xos bo'lib, ulardan qishloq xo'jaligida fosforli mineral texnologiya sifatida foydalanish mumkin [11, 12].

Fosforparchalovchi bakteriyalarning fosforparchalashga bo'lgan moyilligi organik kislotalar va past pH darajasida sodir bo'ladi [13]. Tuproqdagi organik kislotalarni past pH darajasida mikroorganizmlar hosil qiladi va ular yordamida qiyin parchalanuvchi fosfor birikmalari o'zlashtiriladigan formaga aylanadi [14, 15].

Tadqiqotlarimiz davomida kuzgi bug'doy o'simligi rizosferasi mikroflorasidan tuproqda qiyin parchalanadigan va o'simliklar uchun o'zlashtirilishi qiyin bo'lgan fosfor birikmalarini shu o'simlikka xos bakteriyalar yordamida parchalab, ularni o'simliklar oson o'zlashtiriladigan turga olib o'tish, tuproqning fosforli rejimini yaxshilash va fosforli oziqlanishni tartibga solishni o'z oldimizga asosiy maqsad qilib qo'ydik.

Natijada, sug'oriladigan va madaniy o'zlashtirilgan tipik bo'z tuproqlarda o'stirilaëtgan kuzgi kasallangan bug'doy rizosferasidan 10 ta bakteriya izolyatlari ajratib olindi (1-jadval). Bakteriyalarning tuproqdagi fosfor birikmalarini o'z hayot faoliyati natijasida ajratadigan organik kislotalar yordamida parchalash xususiyatiga ko'ra tanlab olindi (1-jadval).

1-jadval

№	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$						Fosfor uni					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	5	10	15	20	24	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	6	8,5	16	19	23	23	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Izoh: Kislota ajratish xususiyati: d-zona hosil etish xususiyatiga qarab

Kuzgi bug'doy rizoferasidan ajratib olingan kulturalar nafaqat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, balki Rossiya tuproqlarida keng tarqalgan AlPO_4 va FePO_4 birikmali tuzlarni ham yuqori darajada parchalashi aniqlandi va buning natijasida o'simlikning fosforli oziqlanish imkoniyati yaxshilanadi. Tuproqning fosforlanishini yechishning samarali yo'llaridan biri qiyin parchalanuvchi fosforli birikmalarining mikrobiologik transformatsiyasi bo'lib hisoblanadi. Ayrim tuproq mikroorganizmlari o'zining hayot faoliyati davomida turli xil organik kislotalar va fermentlar ajratib chiqarib, tuproqda zahira holda o'rnashgan va o'simliklar uchun qiyin o'zlashtiriladigan fosforni parchalashda ishtirok etadi. Bizning asosiy maqsadimiz, radioaktiv ^{32}P izotopidan foydalangan holda fosforparchalovchi rizobakteriyalarning $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ parchalash mexanizmini miqdoriy jihatdan o'rganishdir. Kuzgi bug'doy rizoferasidan ajratib olingan №5 va №9 kulturalarning $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ parchalash mexanizmini yechish uchun radioaktiv ^{32}P foydalanildi va tajriba O'zR FA Yadro Fizikasi Instituti bilan hamkorlikda olib borildi.

Ilmiy izlanishimizning keyingi bosqichi kuzgi bug'doyning rizoferasidan ajratib olingan faol kulturalarning kultural-morfologik va fiziologik-biokimyoviy xususiyatlarini o'rganishdan iborat.

Bakteriyalarning qaysi turga mansubligini aniqlash ishlari ularning koloniyasini o'rganishdan boshlandi va keyinchalik turning morfologik, kultural (har-xil oziqa muhitlarida o'sishi) xamda fiziologik-biokimyoviy belgilari aniqlandi. Mikroorganizmlar qattiq ozuqa muhitlarining yuzasida rivojlanganda shu turning o'ziga xos belgilarini yuzaga chiqaradi. Xar bir ajratib olingan koloniyalarni tavsiflashda quyidagicha: koloniyaning shakli, uning o'lchami, optik xususiyatlari, rangi, yuza qatlami, kabi belgilar xisobga olindi. Kuzgi bug'doy rizoferasidan ajratib olingan kulturalar bir biriga nisbatan antoganistik xususiyatini namoyon etmasligi va aksincha ular birgalikda simbioz yashashi, baliq pepton agari va DNKli ozuqa muhitida DNK parchalanishi hisobiga nukleaza fermenti faolligini aks ettirdi.

2-jadval

Kultura lar nomi	Koloniyalar o'lchami	Hujayra o'lchami, mkm	Rangi	Optimal t, C°	Tiniqligi	Shilim shiqligi
№5	2,7-3,1	0,7-0,8×2,2-2,3	Oq sariq	30-37	-	-
№9	2,1-2,4	0,5-0,7×2,4-2,7	Oq sariq	30-37	-	-

Kuzgi bug'doy rizoferasidan ajratib olingan kulturalar morfologik tuzilishiga ko'ra har-xil xususiyatni namoyon etishi 2-jadvalda keltirilgan.

Ajratib olingan kulturalarning tur mansubligini aniqlashda morfologik kriteriyalarning etarli emasligi, ularning kultural, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganishni taqozo etadi va shu jihatlariga qarab ajratib olingan bakteriyalarning qaysi avlod va turga mansubligi aniqlanadi. Shu xususiyatlarini hisobga olib, kuzgi bug'doy rizosferasidan ajratilgan 2 ta kulturalning kultural, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlarini o'rganishda bosqichma-bosqich testlar qo'yildi 3-jadval .

3-jadval

№	Umumiy belgilari	№5	№9
1	Gramm usulida bo'yalishi	+	+
2	10% NaCl eritmasida o'sishi	+	+
3	Jelatinaning parchalanishi	+	+
4	Kazeinning parchalanishi	+	+
5	Kraxmalning parchalanishi	+	+
6	Letsitinaza faolligi	+	+
7	Foges-Proskauer reaksiyasi	+	+
8	Katalaza faolligi	+	+
9	Haroratga bo'lgan munosabati, max t, C ⁰	40-50	40-50
10	Kislorodga bo'lgan munosabati	aerob	aerob
11	Eshbi ozuqa muhitida o'sishi	+	+

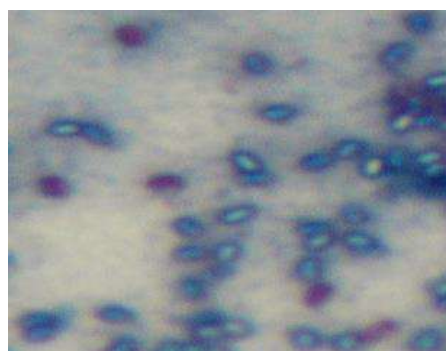
Kultural xususiyatlari ko'ra, kuzgi bug'doy rizosferasidan ajratib olingan kulturalar bir biriga yaqin va o'xshash xususiyatlarini namoyon etdi va ikkala kultura ham Gramm usulida yaxshi bo'yalish xususiyati, yodli gentsian fiolet kompleksi hujayrada yaxshi saqlanishi hamda spirtli eritmada rangsizlanishga chidamliligini aks ettirdi shuningdek, fuksin bilan ishlov berilgandan keyin binafsha rangga kirishi aniqlandi. Bakteriyalarning 10% NaCl chidamliligi, jelatinani parchalashi, kraxmalni gidrolizlaganda esa, hujayra atrofida zona hosil bo'lishi, kazeinning parchalanishi esa koloniya atrofi yaltirash jarayoni bilan borishini, letsitinning gidrolizlanishi esa xolin birikmasining cho'kishi kabi jarayonlarni aks ettirdi.



№5



№9



1-rasm. *Bacillus subtilis* shtammlarining mikroskop (2000 marta kattalashtirilgan) ostidagi umumiy ko'rinishi va gigant koloniyalari

XULOSA

Glyukoza+pepton+NaCl ozuqa muhitida pepton tarkibidagi kreatinning 10% KOH bilan reaksiyasi natijasida atseton hosil qilmaydi ya'ni, Foges-Proskauer reaksiyasiga munosabati salbiy, organizmda to'planadigan zaharli H_2O_2 parchalab katalaza faolligini namoyon etadi va maksimal haroratga bo'lgan munosabati 40-50°C, nafas olish jarayonida O_2 ohirgi elektron aktseptori sifatida foydalanib, aerob bakteriya turiga kiradi hamda Eshbi oziqa muhitida yaxshi o'sishi aniqlandi.

Demak, kuzgi bug'doy rizosferasidan ajratib olingan kulturalar morfologik-kultural va fiziologik-biokimyoviy xususiyatlarini o'rganish natijasida bu bakteriyalar tayoqchasimon aerob spora hosil qiluvchi bakteriya *Bacillus* avlodining *B. subtilis* turi ekanligi aniqlandi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Goldstein A.H., Rogers R.D., Mead J // Separating phosphate from ores via bioprocessing. Bioresource Technology, 1993.-№ 11.P.1250-1254.
2. Banic S. Variation in potentiality of phosphate solubilization soil microorganisms with phosphate and energy source // Zentrabl Microbiology. Poland, 1983.-№ 138.P. 209-216.

3. Berthelin F., Leyval C., Laheurte F., De-Giudiei P. Involvements of roots and Rhizosphere microflora in the chemical weathering of soil minerals. In *Plant Root Growth: an ecological perspective*. Special publication series of the British Ecological Society, NO. 10. Blackwell Scientific, Oxford, 1991.
4. Rodriguez H., Gonzales T., Selman G. Expression of the mineral phosphate solubilizing gene from *Erwinia herbicola* in two rhizobacterial strains // *Journal of Biotechnology*.-England, 2000. № 84.P. 155-161.
5. Son H.J., Parc G.T., Cha M.S., Heo M.S. Solubilization of insoluble inorganic phosphate by a novel salt and pH tolerant *Pantoea agglomerans* R-42 isolated from soybean rhizosphere // *J. Bioresource Technology*.-England, 2000.-№ 97. P. 204-210.
6. Dubey S.K., Billore S.D. Phosphate solubilizing microorganisms (PSM) as inoculant their role in augmenting crop productivity India-A review// *Crop Resource Hisar*.-India, 1992.-№ 5.P.11-17.
7. Lin T.F., Huang H.I., Shen F.T., Young C.C // The protons of gluconic acid are the major factor responsible for the dissolution of tricalcium phosphate by *Burkholderia cepacia* CC- A174 // *J. Bioresource Technology*.-England, 2006.-№ 97.P. 957-960.
8. Mullan A., Quinn J.P., McGrath J.W. Enhanced phosphate uptake and polyphosphate accumulation in *Burkholderia cepacia* grown under low pH conditions // *J. Microbiol Ecology*.-Paris, 2002.-№ 44. P. 69-77.
9. Safura B.K., Yeo T.S., Martin W.L., Duron M.R., Robert D.R., Goldstein A.H. Cloning of a mineral phosphate-solubilizing gene from *Pseudomonas cepacia* // *Appl. Environ Microbiology* J.-England, 1995.-№ 61.P. 972-978.
10. Alexander M. *Introduction to Soil Microbiology*. 1997. 33-399. John Wiley and sons, New-York . Asea P.E.A.
11. Cunningham J.E., Kuyack C. Production of citric and oxalic acids and solubilization of calcium phosphate by *Penicillium bilaji* // *Appl. Environ Microbiology* J.England, 1992.- № 58.P.1451-1458.
12. Nahas E., Banzatto D.A., Assis L.S. Fluorapatite solubilization by *Aspergillus niger* in vinasse medium.// *Soil Biology and Biochemistry* J.- USA, 1990.-№ 22. P. 1097-1110.
13. Moghami a., Tate M.E., Oades J.M. Characterization of rhizosphere products especially 2-ketogluconic acid. *Soil Biology and Biochemistry* J.- USA, 1988.- №10. P. 288-292.
14. Babu Khan S., Yeo T.S., Martin W.L., Duron M.D., Rogers R.D., Goldstein A.H. Cloning of a mineral phosphate solubilizing gene from *Pseudomonas cepacia* // *Appl. Environ Microbiology* J.-England, 1995.-№ 61. P. 972-978.
15. Liu S.T., Lee L.Y., Tai C.Y., Ilorng C., Chang Y.S., Wolfram J.H., Rogers R., Goldstein A.H. Cloning of a *Erwinia herbicola* gene necessary for gluconic acid production and enhanced mineral phosphate solubilization in *Escherichia coli* HB 101 // *Journal Bacteriology*.-Japan, 1992.-№ 174.P.5814-5819.