

ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ

МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ

ХАЙРУЛЛАЕВА ЛОБАР МАНСУР ҚИЗИ

**ASPERGILLUS TERREUS ЗАМБРУҒИНИНГ ГИББЕРЕЛЛИН
ХОСИЛ ҚИЛИШ ХУСУСИЯТИНИ ЎРГАНИШ**

5140100 – Биология

БИТИРУВ МАЛАКАВИЙ ИШИ

Илмий раҳбар:
б.ф.н., доц. Г.Б.Умарова
Илмий маслаҳатчи:
ЎзР ФА Микробиология
институти илмий
ходими: М.Паттаева

ТОШКЕНТ – 2015

МУНДАРИЖА

КИРИШ	3
I БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ	
1.1. Ризосфера замбуруғлари – биологик фаол моддалар манбаи	6
1.2. <i>Aspergillus terreus</i> авлодига мансуб замбруғларлар ҳақида умумий маълумот	10
1.3. <i>Aspergillus terreus</i> авлодига мансуб замбруғларда биологик фаол моддалар биосинтези	11
1.4. <i>Aspergillus terreus</i> авлодига мансуб замбруғларда фитогормонлар биосинтези	13
1.5. Гиббереллин моддаси ҳақида умумий маълумот ва унинг физиологик функцияси	16
1.6. Замбруғларда гиббереллин кислотанинг биосинтез жараёни	18
II БОБ. ИЛМӢЙ ТАДҚИҚОТ МАТЕРИАЛЛАРИ ВА МЕТОДЛАРИ	
2.1. Фитогормонлар синтезловчи <i>Aspergillus terreus</i> авлоди замбуруғларнинг маҳаллий штаммларини ажратиш.	22
2.2. Култура суюқлигидаги ГК миқдорини аниқлаш.	22
2.3. Култура суюқлигидаги оксил миқдорини аниқлаш.	23
III БОБ. ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ ТАҲЛИЛИ	
3.1. Ўсимлик ризосферасидан ажратилган <i>Aspergillus</i> авлодига мансуб штаммларда ГК скрининги.	24
3.2. <i>Aspergillus terreus</i> штаммининг сахарозанинг турли концентрацияларида ГК ҳосил қилиши.	25
3.3. <i>Aspergillus terreus</i> ҳар хил азот манбаларида ГК синтези	26
3.4. <i>Aspergillus terreus</i> штаммида оксил синтези	28
3.5. Мухит рН ининг ГК синтезига таъсири	30
ХУЛОСАЛАР	33
ҲОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ	34

КИРИШ

Мавзунинг долзарблиги. Маълумки, тупроқ қатламида микроорганизмлар таъсирида биосинтезланган фитогормонлар (ауксин, гиббереллин ва бошқалар) тупроқнинг унумдорлигини белгилаб берувчи муҳим омиллардан бири ҳисобланиши қайд қилинади (Kampert, 1975).

Ўсимликларнинг ўсиш ва ривожланиши кўп сондаги эндоген ва экзоген омилларга боғлиқ ҳисобланади. Жумладан, бунда эндоген омилларга – ауксин, цитокин, гиббереллин, этилен, абсциз кислота, брассиностероидлар каби фитогормонлар ҳам киритилади. Ўсимлик илдиз ризоферасида мавжуд бўлган микроорганизмлар томонидан биосинтезланувчи фитогормонлар таъсирида ўсимликларнинг абиотик омиллар таъсирида юзага келувчи стресс ҳолатлари ва фитопатогенларга нисбатан чидамлилиқ даражаси ортиши аниқланган (Драговоз, 2009).

Шундай қилиб, гиббереллинлар нафақат ўсимликларнинг ўсиш ва ривожланиши стимуляторлари сифатида таъсир кўрсатиши, балки ультрабинафша нурланиш, ташқи муҳит ҳароратининг кескин пасайиши, қурғоқчилик, шўрланиш каби стресс омиллар таъсирига чидамлик даражасини ҳам ошириши аниқланган (Веселов, 1998; Полевой, 1998; Кудоярова, 1996; Каримова, 2013).

Ушбу ўринда қайд қилиб ўтиш керакки, Ўзбекистон Республикаси қишлоқ хўжалигида фойдаланилувчи ер майдонларининг адир, чўл ва тоғ минтақалари зоналарида жойлашган ҳудудларида айнан ушбу кўринишдаги абиотик омиллар таъсири яққол ифодаланиши таъкидланади (Каримова, 2013).

Шунингдек, замбруғ турларининг иккиламчи моддалар алмашинуви маҳсулоти сифатида гиббереллин ва индол сирка кислота (ИСК) синтези қишлоқ хўжалиги амалиётида биотехнологик усулда тупроқ унумдорлигини ошириш технологияларини ишлаб чиқиш нуқтаи назаридан фойдаланилиши

мақсадга мувофиқ, самарали услублардан бири сифатида қайд қилинади (Deacon, 1984; Bruckner, 1992).

Микроорганизмлар томонидан биосинтезланувчи фитогормонлар, жумладан гиббереллинлар қишлоқ хўжалиги экинлари ҳосилдорлигини оширишда муҳим аҳамиятга эга ҳисобланиши қайд қилинган (Abdul Latif Khan, 2014).

Амалга оширилган тадқиқотларда ўсимлик илдиз ризосферасида тарқалган – *Penicillium*, *Aspergillus* ва бошқа бир қатор замбруғ культуралари ауксин, гиббереллин ва бошқа ўсиш – ривожланишга турки берувчи таъсирга эга биологик фаол моддалар синтезлаши натижасида ўсимликларда ўсиш ва ривожланишга ижобий таъсир кўрсатиши тасдиқланган (Бекмаханова, 2013).

Тупроқ қатламидан ажратиб олинган *Aspergillus niger* культура шароитида юқори концентрацияда гиббереллин кислота синтезлаши аниқланган (Nilufer, 2002).

Шунингдек, замбруғ турларида кўплаб биологик фаол моддалар, моддалар алмашинувининг иккиламчи маҳсулотларини ўрганиш бўйича етарлича кўп сонда тадқиқотлар амалга оширилган, бироқ айнан *Aspergillus fumigatus* авлоди турларида гиббереллинлар биосинтези жараёни етарлича даражада батафсил ўрганилмаган (Sim Khan, 2009).

Тадқиқот ишининг мақсади. *Aspergillus terreus* замбруғининг гиббереллин ҳосил қилиш хусусиятини ўрганиш.

Тадқиқот ишининг вазифалари:

1. Ўсимлик ризосферасидан ажратилган *Aspergillus* авлодига мансуб штаммларда ГК скринингини ўтказиш.

2. *Aspergillus terreus* замбруғ штаммининг турли озуқа муҳитларида ўсиши ва ривожланишини ўрганиш.

3. *Aspergillus terreus* штаммининг ГК ҳосил қилиш хусусиятига сахарозани турли концентрацияларини, ҳар хил азот манбаларини, муҳит рН ини ҳамда оксил синтези жадаллигини ўрганиш.

Тадқиқот ишининг объекти: *Aspergillus* авлодига мансуб замбуруғ штаммлари.

Тадқиқот ишининг предмети: замбуруғларнинг гиббереллин ҳосил қилиш хусусияти.

Битирув малакавий ишнинг структураси: битирув малакавий иши 35 та компьютер матнидаги бетдан иборат, 8 та расм, 1 та жадвал, та ўзбек, рус ва инглиз манба киритилган.

I БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ

1.1. Ризосфера замбуруғлари – биологик фаол моддалар манбаи.

Ўсимликларнинг нормадаги ўсиши ва соғлиги уларнинг ерусти вегетатив органлари, илдизлари, уруғлари ва уларни қоплаган микроорганизмлар ўртасидаги мураккаб рақобатли муносабатлари билан белгиланади.

Микроорганизмларнинг энг рақобатбардошлари спермосфера, ризосфера (ризоплан), филосфера (филоплан) каби манбаларини эгаллашга мувофиқ бўлдилар. Ўз навбатида микроорганизмлар хўжайин-ўсимликлар билан муносабатга киришади. Ўсимлик илдизлари билан бойитилган тупроқ мураккаб экологик ниша бўлиб хизмат қилади, унинг таркибида фойдали, зарарли ва нейтрал микроорганизмлар мавжуд.

Ўсимлик илдиз тизими томонидан синтезланадиган озуқа моддалар илдиз тизими хужайралари билан секрецияланади, бу ўз навбатида бу ерда бактерия, актиномицет, замбуруғ, сув ўтлари, нематода ва содда ҳайвонларни тўпланишига сабаб бўлади. Ўсимлик ризосферасида замбуруғлар кўп учрайди, улар асосан *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. aureofaciens* (*chloraraphys*), *P. corrugata* ва бошқалар билан намоёндыр. Бактерияларнинг айрим штаммлари ўсимликларнинг яхши ўсиши ва ривожланишини яхшилаиди. Бундай биологик объектлар биопрепаратлар олиш учун ишлатилади.

Ўсимликка PGPRPнинг ижобий таъсири фақат ризосфера бактериялари ёки филосфера бактерияларининг самарали колонизациясида амалга ошиши мумкин. Ўсимликни псевдомонадалар билан колонизацияланишига муҳим омиллардан бири бу бактерияларнинг эксудатлар томон хемотаксис хусусияти ва бактерия хужайралари кўпайишининг етарли тезлиги хизмат қилади, унинг натижасида бактериялар илдиз юзасига ёпишиши (адгезияси) амалга ошади. Бундан ташқари, ризосфера ва филосферада бактерияларни яшовчанлигини таъминлаш учун, улар бир қатор ферментларга (пероксидазалар, протеазалар)га ва токсик бирикмаларга (ўсимликларнинг

фенолли метаболитлари), ҳамда айрим ҳолларда осмо- ёки совуққа толерантликка эга бўлиши керак.

Псевдомонадарнинг ўсимликлар ўсишига ҳам таъсир механизмлари ўрганилган. PGPRнинг айрим штаммлари ауксинлар, цитокинлар ва гибберелинларни синтез қилиш хусусиятига эгаллиги аниқланган. Ўсимлик ўсган жойдаги микроорганизмлар катаболизм қилишга улгурмасдан, ҳамда тупроқ зарраларида иммобилизация бўғунича уларни ўсимлик илдизлари фаол равишда фитогормонларни ўзлаштириб боради (1-расм). Бу бактериал комплекс ўсимликларнинг фосфорли озиқланишини яхшилаши кўзатиш мумкин. Улар тупроқ эритмасида экзоген фосфорни миқдорини ошириш учун иккита тизимни ишлатади: биринчидан, фосфатазалар таъсирида амалга ошадиган органик фосфатларнинг гидролизи бўлса, иккинчидан, органик кислоталар ҳосил қилиш ҳисобига бўлган минерал фосфатларнинг эришидир.

Шуни алоҳида таъкидлаш лозимки, *Pseudomonas* ризобактериялари бошқа эркин яшовчи ассоциатив диазотрофлар (*Azotobacter*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Azospirillum* авлодлари) каби симбиотик азотфиксацияловчи ҳамжамоаларда туганак ҳосил қилишни яхшиловчи амалий аҳамиятга эга.

PGPRнинг кўпгина штаммлари антибиотикларни ишлаб чиқаради, улар ўз навбатида фитопатоген бактерия ва замбуруғларни ўсиши ва ривожланишини секинлаштиради, ҳатто тўсқинлик қилади. Бундай штаммлар флороглюцинлар, феназинлар, пиолотеорин, пирролнитринлар, оомицин А ва бошқаларга ўхшаш антибиотик қаторга кирадиган моддаларни ишлаб чиқади. Айрим антибиотиклар ўсимлик тўқимасида учрайди. Масалан, кучсиз кислотали антибиотиклар ўсимликнинг флоэмаси бўйлаб ҳаракатланиб, ерусти қисмларида тўпланади. Феназинли антибиотиклар юксак ўсимликларда фитоалексинлар синтезининг индуктори бўлиши мумкин. Ризосфера псевдомонадаларининг структураси аниқланмаган учувчан антибиотиклар синтез қилиш хусусияти аниқланган. Табиий фитопатогенлар популяциясида антибиотикларга чидамли хужайралар

мавжуд, айниқса бу ҳолат микроорганизмлар препаратлари билан қайта ишланганда кузатилади. Амалиётда бундай биопрепаратларни қўллаш, лаборатория тадқиқодидан кескин фарқ қилади, бу ерда фитопатоген инокулюми гомоген популяциядан иборат бўлиб, унинг таъсирида индукцияланадиган касаллик назоратда бўлади. Шу сабабдан, бир неча антибиотик ишлаб чиқарадиган штамм-антогонистлар, битта антибиотик ишлаб чиқарадиганга нисбатан бактерия препаратининг фаол ингредиенти сифатида ютуқда бўладилар.

Табиий псевдомонадаларнинг хусусиятидан бири – бу хужайралар зичлиги юқори бўлган вақтда иккиламчи метаболитларни ва экзоферментларни ишлаб чиқариш хусусиятидир. Амалий нуқтаи назардан PGPRP биопрепаратларини ишлатишнинг истиқболи хужайралар зичлиги паст вақтида ҳам антибиотиклар ишлаб чиқаришига эришиш. Бундай биопрепаратлар самараси уруғларни PGPRP хужайралари популяциясида ишланган вақтда самарали бўлиши мумкин.

PGPRP биопрепаратларини ўсимликшуносликда қўллаш истиқболлари ва мақсадга мувофиқлиги маълум. PGPRP штаммлари билан экиладиган материални, илдиз ва ўсимталарини қайта ишлаш сезиларли даражада ўсимликларни фитопатогенлар билан зарарланишини камайтиради ва қишлоқ хўжалик ўсимликларининг ҳосилдорлигини оширади. Ғарбий Европа давлатлари ва АҚШда *Pseudomonas* авлодига мансуб бактериялардан олинган биопрепаратлар ҳимоя воситаси сифатида қайд этилган ва амалиётда қўллашга рухсат этилган. Бизнинг тадқиқодларимиз псевдомонадаларнинг айрим ризосфера штаммларини қўллашнинг истиқболлини намоён этмоқда. Унинг таъсир қилувчи омили *P. aureofaciens* штаммининг тирик бактерия хужайралари бўлиб, ўсимлик илдизи ва поясида колония ҳосил қилиб, ўзидан метаболитлар синтез қилади, ўз навбатида улар фитопатогенлар ўсишини пасайтиради. Ҳимоя таъсирининг самараси штаммнинг феназин типигаги

антибиотикларни: феназин-1-карбон кислотаси, 2-оксифеназин-1-карбон кислотаси ва 2-оксифеназинларни синтез қилиш хусусиятидадир.

Препаратни симбиотик ва ассоциатив азотфиксацияловчи препаратлар билан биргаликда қўллашда атмосфера азотини биологик фиксацияси яхшиланади. Вегетацияланаётган ўсимликларни препарат билан қайта ишлаш, ўсимликларнинг хусусий иммунитетини оширади. Турли иқлимли зоналарда, ҳамда иссиқхоналарда ўтказилган препаратнинг синови унинг гельминтоспориозли, офио касаллиги ва илдизнинг (илдизолди) фузариозли чиринди, ҳамда бошоқ фузариози, мучнистая роса, септориоз, қорли моғор ва бошқа бир қатор донли ўсимликларнинг касалликларига бўлган биологик фаолликларни намоён қилди. Юқорида қайд этилган касалликларга нисбатан вегетациядаги ўсимликлар, ҳамда экиндан аввалги уруғнинг бактеризация 65-66%га препаратнинг биологик самарасини оширади. Натижада Псевдобактерин-2 билан қайта ишланган донли экинларнинг ҳосилдорлиги 2-15 ц/гани, сабзовот экинларнинг – 30-200 ц/гани; узумнинг – 20-37 ц/гани ташкил этган. Ҳозирги вақтда мазкур препарат биофунгицид сифатида қайд этилган ва РФ ҳудудида донли ва сабзовот экинларини ҳимоя қилишда (фузариоз, ризоктониоз, питиоз, кладоспориоз ва қўнғир доғликликка қарши) қўллаш учун рухсат берилган.

Pseudomonas авлодига мансуб ризосфера бактериялари асосида яратилган биопрепаратларнинг қишлоқ хўжалигида қўлланишининг тўхтаб туришига сабаб, уларни ишлаб чиқарадиган стандарт технологияларнинг йўқлигидадир. Аммо ҳозирги кунда PGPRPнинг суёқ ва концентрацияланган культураларни самарали қўллаш имкони СтаЗР регионал биофабрикалари ва хўжалик ичидаги биолабораториялар томонидан ишлаб чиқарилиши натижасида пайдо бўлмоқда. Янги рецептурани ишлаб чиқариш ва ишлаб чиқариш технологиясини ишлаб чиқари бўйича фаол олиб борилаётган тадқиқодлар биопрепаратларнинг самарасини янада оширади. Яқин истиқболда ризосфера псевдомонадалар асосидаги препаратлар

фитопатогенлардан ўсимликлар ва ҳосилни ҳимоясида, уруғни униши ва ўсимлик ўсишини рағбатлантиришда қўлланиши мумкин. Натижада ўсимлик ўсимтаси ва ўсимликнинг фосфорли озиқланиши, дуккаклиларда туганак ҳосил қилиши, меваги дарахт ва буталарнинг қаламчаларини униши самарасини оширади.

Ўсимлик ва тупроқ, жумладан, ризосфера микроорганизмлари ўртасида мустаҳкам муносабатлар мавжуд бўлиб, улар структураси ўхшаш ёки бир хил бўлган бирикмалар томонидан бошқарилади. Бундай эволюцион жихатдан консерватив модда сифатида ўсимликни ўсиши ва ривожланишини таъминловчи бирикмаларни киритиш мумкин. Микроорганизмларнинг бундай ўсимлик фитогормонларини синтезлаш хусусияти ўсимликшунослик учун биопрепаратлар олишда кенг қўлланади (Дроговоз, 2009).

1.2. *Aspergillus terreus* авлодига мансуб замбруғларлар ҳақида умумий маълумот. *Aspergillus terreus* авлодига мансуб замбруғларлар тупроқ қатламида, ўсимликлар илдиз атрофида (*ризосфера*) кенг тарқалган замбруғлар ҳисобланади. *Aspergillus terreus* популяцияси термофил ва термотолерант тавсифга эга замбруғлар ҳисобланади. Масалан, Туркманистон ҳудудида чўл – адир минтақаси тупроқ қатламида тарқалган *Aspergillus terreus* популяцияси $+20 - +47^{\circ}\text{C}$ ҳарорат диапазонида мавжуд бўлиши аниқланган бўлиб, бунда оптимал ҳарорат қиймати $+37^{\circ}\text{C}$ ни ташкил қилиши қайд қилинган (Мирчинк, 1988).



1 – расм. *Aspergillus terreus* колонияси.

(Насметова, 2013)

1.3. *Aspergillus terreus* авлодига мансуб замбруғларда биологик фаол моддалар биосинтези. Ҳозирги вақтда биотехнологик саноат миқёсида *Aspergillus* авлоди замбруғлари асосида α -амилаза, липаза, β -глюкозидаза, лактаза ферментлари синтезланади (Храмцова, 2011).

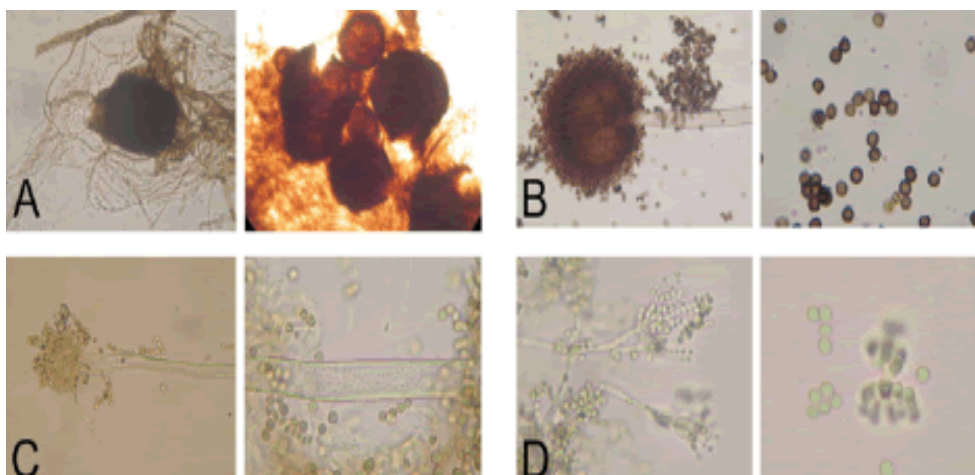
Шунингдек, *Aspergillus niger* штамми асосида рибофлавин (витамин B₂) синтезланади. *Gibberella fujikuroi* замбруғи саноат миқёсида гиббереллин синтезлаш мақсадида кенг фойдаланилади. Бунда гиббереллин синтези жараёни 2 та босқичдан ташкил топган технология асосида амалга оширилиб, инкубация муҳити таркибида азот манбаининг камайтирилиши ва углерод манбаининг юқори концентрацияда таъминланиши асосида юқори самарадорликдаги биосинтез жараёни таъминланади (Храмцова, 2011).

Шунингдек, *Aspergillus niger* ATCC 9642 штамми оксигеназа ферменти синтезлаши ҳам аниқланган (Flores-Flores, 2011). Бундан ташқари, *Aspergillus* авлоди замбруғлари асосида бир қатор алкалоидлар ҳам синтезланади (Храмцова, 2011). Япониялик олимлар томонидан *Aspergillus terreus* штамми полиакриламид гел муҳитида иммобилизацияланиши асосида итакан кислота синтези биотехнологиясини ишлаб чиқишган (Храмцова, 2011).

Aspergillus ва *Penicillium* авлодига мансуб замбруғларда гиббереллин биосинтези кўпгина тадқиқотчилар ишларида қайд қилинган (Young-Hyun You et al., 2011). Шунингдек, айрим тадқиқотчилар томонидан чиқиндиларни биологик усулда парчалаш мақсадида *Aspergillus terreus* штаммларининг каталаза, пероксидаза ва фенолоксидаза фермент фаоллигига эғалигидан фойдаланиш истиқболлари ўрганилган (Касатова ва бошқ., 2011).

Aspergillus авлодига мансуб замбруғлар саноат миқёсида биотехнологик усулда ферментлар ва органик кислоталар синтезлаш мақсадида истиқболли агентлар сифатида фойдаланилади (Webster, 2007). Тадқиқотларда *Aspergillus*, *Penicillium* авлоди замбруғларида фитаза ферменти синтезланиши қайд қилинган (Maritza Ocampo Betancur, 2012).

Жумладан, *Aspergillus* авлоди замбруғ штаммлари асосида синтезланган фитаза ферменти термик барқарорлик хоссасига кўра юқори кўрсаткичга эга ҳисобланади. Айнан, шу сабабли одатда, тижорат мақсадларида биотехнологик усулда ишлаб чиқарилувчи фитаза ферментининг асосий қисми *Aspergillus* авлоди замбруғ штаммлари асосида синтезланади (Vats and Banerjee, 2004).



2 – расм. Айрим замбруғ авлоди турларида синтезланган фитаза ферменти: *A, B, C, D* – *Aspergillus* авлоди штаммларида синтезланган фитаза ферменти ифодаланган. (Насметова, 2013)

Бундан ташқари, *Aspergillus foetidus* замбруғи ксиланаза, α -галактозидаза, амилаза ва танназа каби ферментларни биотехнологик усулда синтезлашда фойдаланилади (Michelena, 1984; Purohit, 2006; Liu, 2007; Valte, 2010).

Aspergillus авлодига мансуб замбруғ турлари бир қатор алкалоидлар биосинтезлаши қайд қилинади. Жумладан, амалга оширилган тадқиқотлар давомида тупроқ қатлаидан ажратиб олинган *A. versicolor* ва *A. sydowii* замбруғлари алкалоид табиатига эга бўлган микотоксинлар, клавин қатори алкалоидлари (фумигаклавин Б), дикетопиперазин алкалоидлар (N-метилфенил – аланилтриптофанил дикетопиперазин, дитриптофенил,

бrevianамид F, фумитреморгин C ва веррукулоген), α -циклопиазон кислота синтезлаши аниқланган (Хмельницкая, 2003). *Aspergillus* авлоди турларида целлюлаза ферменти ҳам синтезланиши қайд қилинган (Bhat, 2000).

1.4. *Aspergillus terreus* авлодига мансуб замбруғларда фитогормонлар биосинтези. Тадқиқотларда айрим ўсимлик турлари (Миср ўсимликлар олами) илдиз ризосфераси таркибидан ажратиб олинган *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium corylophilum*, *P. cyclopium*, *P. funiculosum* ва *Rhizopus stolonifer* замбруғ турларининг гиббереллин ва индол сирка кислота (ИСК) синтезлаш хусусияти ўрганилган. Бунда инкубация муҳити таркибида 0,5 – 1%ли NaCl эритмаси таъсирида замбруғ турларида гиббереллин ва индол сирка кислота биосинтези жараёни сусайиши аниқланган. Шунингдек, озуқа муҳити таркибида 40 мМ концентрацияда Ca^{2+} ионлари киритилиши таъсирида эса – ушбу фитогормонлар биосинтези жараёни интенсивлиги даражаси ортиши қайд қилинган (Hasan, 2002).

Rim ва унинг ҳаммуалифлари томонидан 26 та турга мансуб ўсимликлардан ажратиб олинган замбруғлар, жумладан – *Penicillium canescens* KGL0405, *Penicillium venetum* KGL0404 штаммларининг Чапек озуқа муҳитида спектрофотометрия усули ёрдамида гиббереллин синтезлаш хусусияти ўрганилган (Rim, 2007).

Каримова ва унинг ҳаммуалифлари томонидан амалга оширилган тадқиқотлар давомида ўсимлик илдиз ризосфераси таркибидан замбруғлар Чапек – Докс озуқа муҳитида ўстирилиб, культура суюқлиги 6000 айланиш/минут қийматида 15 минут давомида центрифугаланган ва синов муҳити таркибидаги гиббереллинлар «Specol-1300» русумли спектрофотометр ёрдамида аниқланган. Жумладан, *Ferula foetida* ўсимлиги баргидан ажратиб олинган *Aspergillus terreus* – FF65L замбруғи культурасида гиббереллин синтезлаш қиймати 40 мкг/мл ни ташкил қилиши ва шунингдек, *Tulipa scharipovii* ўсимлиги пиёзчасидан ажратиб олинган *Aspergillus niger*-

TSch73 замбруғида гиббереллин синтезлаш қиймати 10 *мкг/мл* ни ташкил қилиши қайд қилинган (Каримова, 2013).

Шунингдек, Республикамиз миқёсида амалга оширилган тажрибаларда *Aspergillus terreus*-4 ва *Aspergillus terreus*-20 штамлари гипохолестеринемик таъсир хоссасига эга бўлган, симвастатин («Zocor») моддасини синтезлаши аниқланган (Насметова, 2013).

Тадқиқотлар давомида *Moringa peregrine* ўсимлигидан эндофит тавсифга эга бўлган *Aspergillus caespitosus* LK12 штамми ажратиб олинган ва ДНК – секвенирлаш услуби ёрдамида унинг структура таркиби идентификацияланиб, культура шароитида гиббереллинлар (ГК₁, ГК₃, ГК₄ ва ГК₇) синтезлаш хусусияти ўрганилган. Жумладан, *Aspergillus caespitosus* LK12 штамми хужайрасида нисбатан ГК₁ ва ГК₄ гиббереллин кислотаси кўпроқ синтезланиши аниқланган (Abdul Latif Khan et al., 2014).

Бизга маълумки, гиббереллинлар ўсимлик организмида турли хил метаболик тавсифга эга функцияларни бажариб, ўсиш ва ривожланиш жараёнига стимулятор сифатида таъсир кўрсатиши, уруғларнинг унувчанлигини ошириши, поя ва новдаларнинг ўсиши, гул ва меваларнинг шаклланиши ва етилишини тезлаштирувчи таъсир кўрсатиши аниқланган (Lee, 1998).

Айрим адабиёт маълумотларида ҳозирги вақтга қадар 50 дан ортиқ, 90 дан ортиқ гиббереллинлар синтезланиши аниқланганлиги келтирилса, Bomke ва унинг ҳаммуалифлари томонидан эса – ҳозирги вақтда тавсифланган гиббереллинларнинг сони 136 тани ташкил қилиши қайд қилинади (Bomke, 2008) (http://www.plant-hormones.info/gibberellin_nomenclature.htm).

Кўпгина замбруғ турлари, жумладан – *Gibberella fujikuroi*, *Sphaceloma manihoticola*, *Phaeosphaeria* sp., *Neurospora crassa* хужайраларида синтезланувчи гиббереллин кислотаси (ГК₃) батафсил ўрганилган (Rademacher, 1994).

Гиббереллин синтезловчи айрим замбруғ турлари ўсимликларнинг илдиз ёки бошқа органларида эндофит тавсифда симбиоз ҳолатда мавжуд бўлиши кузатилади (Schulz, 2005; Hyde, 2008; Kumar, 2012; Waqas, 2014) ва бу ҳолат бевосита улар томонидан синтезланувчи гиббереллинларнинг ўсимликнинг ўсиш – ривожланишига ижобий таъсир кўрсатиши таъкидланади (Schulz, 2005).

Жумладан, эндофит замбруғлар томонидан синтезланувчи гиббереллинлар ўсимликларнинг биотик ва абиотик омиллар таъсирига чидамлилик хусусияти ошишида муҳим ўрин тутиши қайд қилинади (Khan, 2011a; 2011b).

Шунингдек, *Penicillium commune* (Choi, 2005), *Phaeosphaeria* sp. L487 (Kawaide, 2006), *Chrysosporium pseudomerdarium* (Hamayun, 2009), *Aspergillus fumigatus* (Khan, 2011a), *Penicillium funiculosum* (Khan, 2011b) замбруғ турларида ҳам гиббереллинлар биосинтези амалга ошиши аниқланган ва ўрганилган, жумладан бунда айрим муаллифлар томонидан замбруғларда гиббереллинлар биосинтезининг тахминий схемаси ишлаб чиқилган (Hamayun, 2010; 2012).

Амалга оширилган тадқиқотларда шоли экин майдонларида ўсувчи бегона ўт ҳисобланган *Monochoria vaginalis* туридан ажратиб олинган *Penicillium* sp. ва *Aspergillus* sp. эндофит замбруғларда гиббереллинлар биосинтези ўрганилган. Жумладан, ушбу замбруғ турларида биологик жихатдан фаол ҳолатдаги ГК₃, ГК₄ ва биологик нофаол ҳолатдаги – ГК₉, ГК₂₄ гиббереллин кислоталари синтезланиши аниқланган (Ahmad, 2010).

Тадқиқотларда *Aspergillus fumigatus* замбруғида синтезланган ГК₁, ГК₇ ва ГК₄ ва ГК₃ гиббереллин *Gibberella fujikuroi* замбруғидан ажратиб олинган гиббереллинга солиштириш асосида ўрганилган. Бунда ГК₅, ГК₁₉ ва ГК₂₄ гибберелинлар физиологик жихатдан нофаол ҳолатдалиги қайд қилинган (Sim Khan, 2009).

ЎзР ФА Микробиология институти ходимлари томонидан термофил *Aspergillus fumigatus* 2 ва термотолерант тавсифга эга бўлган *Aspergillus terreus* 8 замбруғларининг фитогормон синтезлаш жараёни ўрганилган. Одатда, галофил ва иссиқсевар (*термофил*) замбруғ турлари экстремофил тавсифга эга бўлган турлар қаторига киритилиб, бу турлар шўрланиш даражаси нисбатан юқори бўлган ташқи муҳит шароитида ҳам ҳаёт кечири олишлари қайд қилинади. Иссиқсевар ва термотолерант тавсифга эга бўлган замбруғлар индол-3-ацетат кислота ва гиббереллин кислота (ГК₃) синтезлаши аниқланган. Тажрибалар давомида инкубация муҳитида NaCl ва Na₂SO₄ тузларининг турли хил концентрацияси мавжуд шароитда *Aspergillus fumigatus* 2 (+55°C ҳароратда) ва *Aspergillus terreus* 8 (+45°C ҳарорат шароитида) замбруғларида фитогормонлар синтези ҳароратга боғлиқ ҳолатда ўрганилган. Бунда *Aspergillus terreus* 8 шўрланиш таъсирига нисбатан чидамлилиги ва тузли муҳит шароитида ҳам фитогормонлар биосинтезлаш хусусиятини тўлиқ сақлаб қолиши аниқланган. Муҳит таркибида тузлар концентрацияси 0,5 – 1% шароитда эса – *Aspergillus terreus* 8 замбруғида назорат гуруҳи кўрсаткичларига деярли тенг қийматда гиббереллин ва индол-3-ацетат кислота синтезланиши қайд қилинган (Хамидова, 2013; Pattaeva, 2014).

Aspergillus авлодига мансуб замбруғлар асосида ферментлар синтезлаш биотехнологияси йўналишида кўпгина патентлар олинган. Жумладан, *Aspergillus foetidus* ВКПМ F-4061 штамми инулиназа фермент фаоллигига эгаллиги аниқланган (Слободкина, Патент, RU 1631070; FindPatent.ru). Шунингдек, *Aspergillus oryzae* ВКМ Г-46Д штамми ксинаназа продуценти ҳисобланиши қайд қилинган (Насметова, 2013).

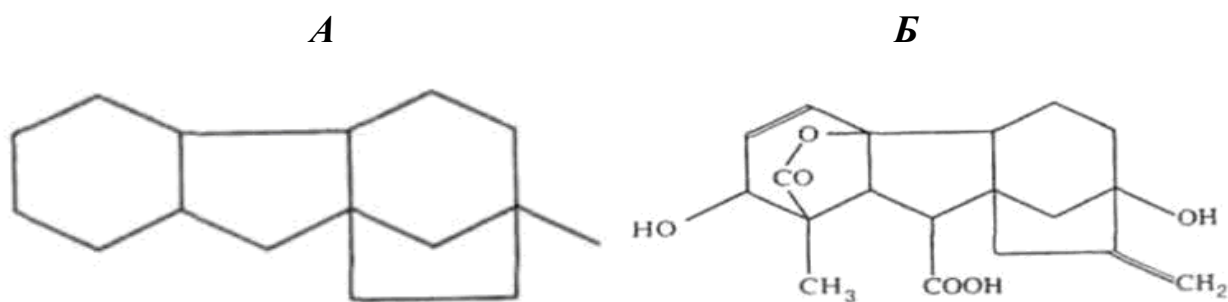
1.5. Гиббереллин моддаси ҳақида умумий маълумот ва унинг физиологик функцияси. XX асрнинг 1920 – йилларида Токио университетида Е.Куросава томонидан қишлоқ хўжалигида катта зарар келтирувчи, шоли ўсимлигининг «*баканэ*» касаллиги ўрганилган ва ушбу

касалликни ҳозирги вақтда *Fusarium moniliforme* деб номланувчи *Gibberella fujikuroi* замбруғи келтириб чиқариши аниқланган. 1926 – йилда ушбу замбруғ экстракти ажратиб олинган.

Гиббереллин моддаси биринчи марта 1935 – йилда Т. Yabuta томонидан *Gibberella fujikuroi* замбруғи ва шунингдек, К. V. Thimann томонидан *Rhizopus sinuatus* турлари таркибидан кристалл ҳолатда ажратиб олинган (Hasan, 2002).

1954 – йилда Англияда гиббереллин кислота ажратиб олинган ва гиббереллин – 3 (ГК₃) деб номланган. Яъни, гиббереллинлар орасида миқдорий жиҳатдан етакчи ўринда турувчи – гиббереллин – 3 (ГК₃) моддаси – Бошкова ва унинг ҳаммуалифлари томонидан замбруғлар таркибидан ажратиб олинган (Bozhkova, 1991).

1959 – йилда гиббереллин кислотанинг кимёвий структура формуласи аниқланган ва ҳозирги вақтда 90 дан ортиқ гиббереллинлар нафақат замбруғлар, балки ўсимликлар таркибида ҳам мавжудлиги қайд қилинган. Гиббереллинлар тетрациклик карбон кислоталар бўлиб, кимёвий тузилишга кўра, дитерпенлар қаторига киритилади ва структура таркибида *гиббан* унуми деб номланувчи тузилмага эга ҳисобланади (3 – расм).



3 – расм. А – гиббан унуми; Б – гиббереллин кислота – 3 (ГК₃).

Одатда гиббереллинлар ўсимликларнинг фаол ҳолатда ўсувчи орган ва тўқималарида, барг ва куртакларида, илдиз учки қисмида кўп миқдорда синтезланиши аниқланган. Барглarda синтезланган гиббереллинлар флоэма ва ксилема қавати орқали ўсимликнинг бошқа қисмларига ташилади. Гиббереллинлар ўсимликларда ўсиш ва ривожланишга тутки берувчи таъсир кўрсатиши аниқ бўлсада, бироқ хужайра даражасидаги молекуляр таъсир

механизмлари батафсил ойдинлаштирилмаган. Гиббереллинлар донли экинлар уруғларида оксиллар ва α -амилаза биосинтезини кучайтириши, хужайрада моддалар алмашинувини жадаллаштириши, эҳтимол генлар даражасида таъсир кўрсатиши тахмин қилинади. Жумладан, гиббереллинларнинг арпа уруғида биологик мембрана хоссаларига таъсир кўрсатиши ва α -амилаза синтезини фаоллаштириши, айрим ўсимлик тўқималарида эса – РНК ва функционал ферментлар фаоллигига таъсир кўрсатиши аниқланган.

Гиббереллинлар ўсимликлар организмида физиологик функцияларни жадаллаштирувчи стимуляторлар ҳисобланиши асосида қишлоқ хўжалигида экинларнинг ҳосилдорлигини ошириш мақсадида фойдаланилиши билан биргаликда, айрим ҳорижий мамлакатларда пиво ишлаб чиқариш саноатида технологик жараёнларни тезлаштириш учун ҳам қўлланилиши таъкидланади (Серебряков, 1979).

Ҳозирги вақтда амалий биотехнология соҳасида гиббереллинларни синтезлашда замбруғлар культураларидан кенг миқёсда фойдаланилади. Ушбу асосда ишлаб чиқарилган фитогормон препаратлари қишлоқ хўжалигида ўсимликларнинг ўсиш ва ривожланиши стимуляторлари сифатида фойдаланилади.

1.6. Замбруғларда гиббереллин кислотанинг биосинтез жараёни.

Гиббереллинлар дитерпен қаторига кирувчи моддалар гуруҳи бўлиб, ўсимликда пластидаларда глицеральдегид-3-фосфат ва пируватдан изопентил дифосфат ҳосил бўлиши орқали синтезланади. Гиббереллинлар структураси таркибида 19 та (C_{19}) ёки 20 та (C_{20}) углерод атомига эга бўлиб, 4 та ёки 5 та ҳалқа ҳосил қилади. Бунда бешинчи ҳалқа *лактон ҳалқаси* ҳисобланади. Структураси таркибида тетрациклик (тўрт ҳалқали) *ent*-гиббереллин структурага эга бўлган (C_{20}) гиббереллинлар **C_{20} -гиббереллинлар** деб номланади, шунингдек структураси таркибида пентациклик (беш ҳалқали) 20-нор-*ent*-гиббереллин (C_{20}) гуруҳи эса – **C_{19} -гиббереллинлар** деб

номланади. Бунда одатда, C_{20} -гиббереллинлар функционал фаоллик хусусиятига эга ҳисобланмайди, бироқ улардан фаол шаклдаги C_{19} -гиббереллинлар синтезланиши мумкин. MacMillan томонидан (2001 йил) 100 тадан ортиқ ўсимлик, 7 та бактерия ва 7 та замбруғ туридан ажратиб олинган, ГК₁ дан бошлаб, 136 та гиббереллинларнинг структура тузилиши ва хоссалари батафсил тавсифланган (MacMillan, 2001).

Тавсифланган 136 та гиббереллинлардан фақат, айримларигина биологик фаоллик хусусиятига эга ҳисобланади. Жумладан, ГК₁, ГК₃, ГК₄, ГК₅, ГК₆ ва ГК₇ гиббереллинлар нисбатан энг юқори қийматдаги биологик фаолликка эгаллиги аниқланган. *Zea mays* ва *Pisum sativum* ўсимлик турларида поянинг жуда тез ўсишини белгилаб берувчи ГК₁, шунингдек, *Cucurbitaceae* ва *Arabidopsis thaliana* ўсимликларида ўсиш – ривожланиш жадаллигини таминловчи ГК₄ гиббереллинлар жуда юқори биологик фаолликка эга ҳисобланади. ГК₃ 40 дан ортиқ ўсимлик турлари таркибида мавжудлиги аниқланган бўлиб, бундан ташқари *Gibberella fujikuroi* замбруғида асосий синтезланувчи гиббереллин ҳисобланади. Қайд қилиб ўтиш керакки, ГК₃ гиббереллин моддаси қишлоқ хўжалиги экинларининг ўсиш ва ривожланишини жадаллаштириш, мева ва уруғларнинг пишиб етилишини тезлаштириш мақсадларида фойдаланиш учун кенг миқёсда биотехнологик усулда синтезланувчи фитогормон препаратларидан бири ҳисобланади. Одатда, ГК₅ ва ГК₆ ўсимликларда гуллашни тезлаштирувчи таъсир кўрсатиши қайд қилинса, ГК₁ ва ГК₄ эса – поянинг ўсиши тезлашишини таъминлаши аниқланган (King, 2003).

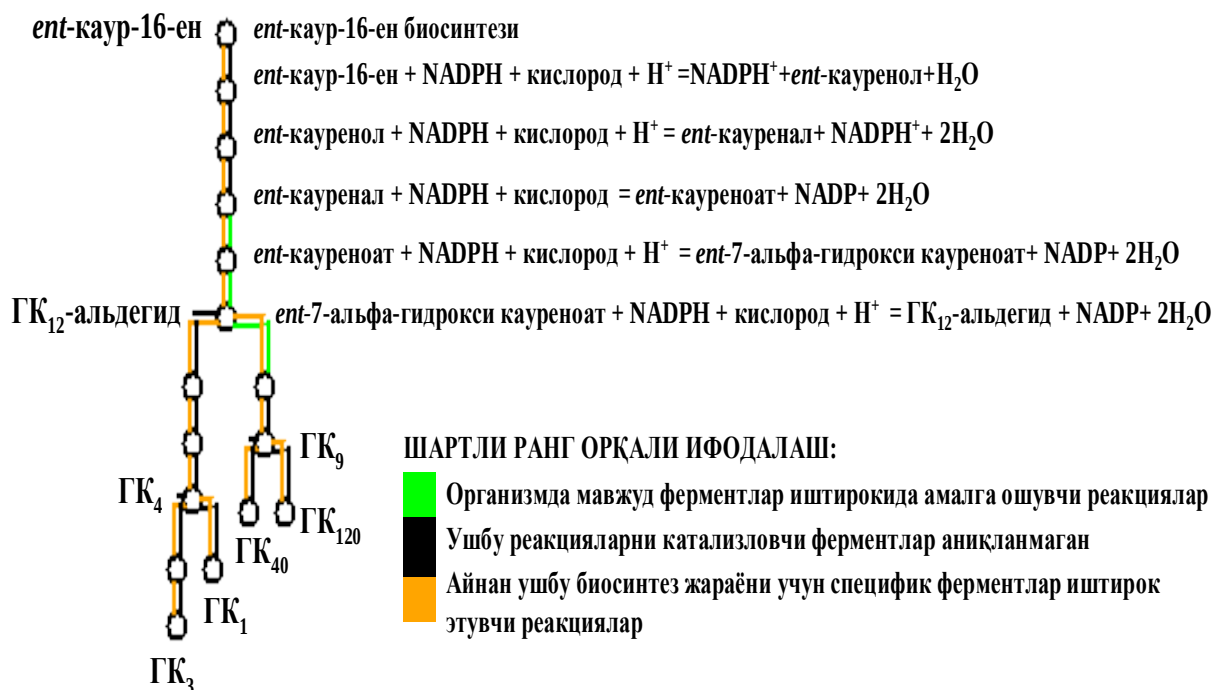
Ўсимликда гиббереллинлар ёш ва ўсаётган тўқима ва органларда, шунингдек унаётган уруғларда синтезланиши тахмин қилинади. Ўсимлик илдизида гиббереллинларнинг синтезланиши айрим муаллифлар томонидан рад этилади. Бундан ташқари, айрим адабиёт маълумотларида гиббереллинларнинг ўсимлик баргларида синтезланиши ҳақидаги фактлар келтирилган. Айрим кимёвий моддалар, жумладан – phosphon D, amo-1618,

cycosel, ancymidol, paclobutrazol кабилар гиббереллинлар биосинтези фаолиги сусайтирувчи ингибиторлар сифатида таъсир кўрсатиши аниқланган (Sponsel, 2004).

Gibberella fujikuroi замбруғида гиббереллин – 3(ГК₃) биосинтези ГК₁₄ нинг оксидланиши асосида, босқичли тавсифда амалга ошувчи жараён ҳисобланади. Замбруғларда ўсимликлардан фарқ қилиб, гиббереллин ГК₁₄ биосинтези ГК₁₂ орқали эмас, балки ГК₁₄-альдегид орқали амалга ошади (Rojas, 2001).

ГК₁₄ синтезланганидан кейин, P₄₅₀-2 гени орқали кодланувчи 20-оксидаза ферменти таъсирида C₂₀ структура ГК₄ гиббереллин структурасидаги C₁₉ ҳолатга ўтади. Бунда ушбу фермент (GfGA20OX) ўсимликлардагидан фарқ қилиб, монооксигеназа сифатида таъсир кўрсатади. Шу сабабли, *Gibberella fujikuroi* замбруғида гиббереллин биосинтези жараёнида альдегид ёки спирт каби оралик маҳсулотлар ҳосил бўлмайди (Tudzynski, 2002).

Гиббереллин биосинтезидаги навбатдаги 2 та босқич 1,2-дезатураза ва гиббереллин-13-гидроксилаза ферментлари иштирокида амалга ошади, натижада мос равишда ГК₇ ва ниҳоят ГК₃ ҳосил бўлади. *Gibberella fujikuroi* замбруғида гиббереллин биосинтези жараёнида асосий (бирок, ягона ҳолатда эмас) электрон донори сифатида NADPH-цитохром P₄₅₀ редуктаза CPR-Gf ўрин тутди (Malonek, 2004).



4 – расм. *Gibberella fujikuroi* замбруғида гиббереллин

биосинтезининг умумий схематик кўриниши

(<http://fungicyc.broadinstitute.org> сайти маълумотлари асосида).

I БОБ БЎЙИЧА ХУЛОСАЛАР:

Адабиётлар тахлили бобида ўсимлик ризосфераси замбуруғлари томонидан биологик фаол моддалардан гиббереллин синтезига бағишланган замонавий тадқиқотларнинг анализи келтирилди. Бунда кўпгина ўсимликлар илдиз ризосферасида тарқалган замбруғ турлари амалий жихатдан ўсимликлар учун фойдали ҳисобланган биологик фаол моддалар синтезлаши қайд қилинади. Бироқ, эндофит тавсифга эга бўлган *Aspergillus* штаммлари томонидан гиббереллин синтезланиши механизмлари батафсил ўрганилмаганлиги таъкидланади. Шунингдек, ўсимликларнинг абиотик омиллар таъсирига чидамлилик механизмлари қарор топишида фитогормонлар, жумладан гиббереллинлар муҳим аҳамиятга эга ҳисобланиб, айрим тадқиқотчилар томонидан айнан гиббереллинларнинг донли экинларда чидамлилик механизмлари шаклланишидаги ролини ўрганиш муҳим масала ҳисобланиши ҳақида маълумотлар ёритилган.

II-БОБ. ТАДҚИҚОТНИНГ МАНБА ВА УСУЛЛАРИ

2.1. Фитогормонлар синтезловчи *Aspergillus terreus* авлоди замбуруғларнинг маҳаллий штаммларини ажратиш. Замбуруғ штаммларини ўстириш ва кўпайтириш учун қуйидаги таркибли Чапек озуқа муҳитидан фойдаланилди (г/л): сахароза – 20.0, NaNO_3 – 3.0, KH_2PO_4 – 1.0, MgSO_4 – 0.5, KCl – 0.5, FeSO_4 – 0.01, дистилланган сув – 1000 мл, агар – 20-30. Бундан ташқари, фойдаланилаётган штаммнинг ўсиши ва ривожланишини ўрганиш мақсадида Мендельс озуқа муҳитидан (г/л): KH_2PO_4 – 1.0, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ – 2.3, MgSO_4 – 0.5, CaCl_2 – 0.3, микроэлементлар эритмаси – 1 мл. ҳам фойдаланилди.

Штамм чуқур усулда 500 мл ли Эрленмейер колбасида 250 мл суюқ озуқа муҳитида 28°C ҳароратда 144 соат мобайнида тебраткичда ўстирилди.

Экиш материали сифатида қаттиқ агарли пробиркаларда сақланган штаммларнинг спори суспензияларидан фойдаланилди.

Штаммларнинг ўсиши ва ривожланиши XSP-136B электрон микроскопи ёрдамида кузатилди.

Штаммларнинг култура хусусиятлари ўрганишда уларнинг Петри ликобчаларида гигант колонияларини ўстириш жараёнида тадқиқ этилди. Штаммларнинг гигант колонияларини ўстириш Чапек озуқа муҳитида 28°C ҳароратда 60–72 соат мобайнида давом этди.

2.2. Култура суюқлигидаги ГК миқдорини аниқлаш. Културал суюқликлар таркибидаги ГК миқдори Муромцев усули бўйича уларнинг фосфор-молибден вольфрамат комплекси билан ҳосил қилган маҳсулотларнинг фотоколориметрик таҳлили орқали аниқланди. Бунинг учун озуқа муҳитларига штамм экилиб, 28°C ҳароратда 14 кун мобайнида ўстирилади. Ўстирилган културалар филтр қоғоздан ўтказилади. Намуналардан 1 млдан супернатант олиниб 0,5 мл Фолин кислотаси солинади ва чайқатилади. Маълум муддат чайқатилгандан сўнг устига HCl (соляний) кислотаси солиб аралаштирилади ва қоронғи жойда 40 минут

қолдирилади. ГКли намуналар яшил ранг ҳосил қилади. Сўнгра, ФЭК - КФК-2 (Россия) фотокалориметрида 670 нм тўлқин узунлигида қизил ёруғлик фильтри орқали супернатантларнинг оптик зичлиги текширилади. Намуналардаги ГКнинг миқдори ГКнинг стандарт эгри чизиғи асосида ҳисобланади (Муромцев, 1966).

2.3. Култура суюқлигидаги оқсил миқдорини аниқлаш. *Aspergillus terreus* штамми синтезлаган оқсил миқдорини Лоури усулида аниқланади (4). Бунинг учун 0,5 мл миқдоридаги култура суюқлиги пробиркаларга солиниб, А реактиви (20 г Na_2CO_3 1 л 0,1 нМ NaOH эритмасида (600 мл H_2O да 4 г NaOH эритилади ва 1 л ҳажмга етказилади) эритилади) – 50 мл, ва В реактиви (10 г $\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ёки $\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ 300 мл H_2O ва 5 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ эритилиб 1 л ҳажмга етказилади) – 1 мл биргаликда қўшилиб 2,5 мл миқдорида пробиркалардаги култура суюқлиги устига қуйилади ва қоронғи жойда 10 дақиқага қолдирилади. 10 дақиқадан сўнг, 0.25 мл миқдоридаги Фолин эритмаси (100 г $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 25 г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ эритилиб 1 л ҳажмга етказилади) қуйилиб 35 дақиқага хона ҳароратига қўйилади. Оқсил миқдори спектрофотометрда қизил нур остида кўрилади ва чиққан сон стандарт эгри чизиқ асосида ҳисобланади.

III-БОБ. ТАДҚИҚОТ НАТИЖАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ТАҲЛИЛИ

3.1. Ўсимлик ризосферасидан ажратилган *Aspergillus* авлодига мансуб штаммларда ГК скрининги. Адабиёт манбаларидан маълумки, микромицет замбуруғлар асосан ризосфера тупроқ намуналаридан (Касатова, 2011) ажратиб олинган. Шунингдек, айрим муаллифларнинг ишларида ўз ўзини қиздирувчи табиий манбалардан ҳам ажратиб олинганлиги баён этилади (Драгатов, 2009).

Биз тадқиқотлар учун ЎзР ФА Микробиология институти “Ўсимлик хом ашёларини микробиологик қайта ишлаш” лабораториясида сақланаётган штаммлардан фойдаландик.

Тадқиқотлар доирасига тортилаётган штаммларнинг ГК синтезига скрининг ўтказиш мақсадида 10 та *Aspergillus* авлодига мансуб замбуруғ штаммларидан фойдаланилди. Уларнинг ГК ҳосил қилишини ўрганиш учун замбуруғ штаммлари анъанавий Чапек озуқа мухитига экилиб 14 сутка давомида динамик усулда аниқлаб борилди. Култура суюқлигидаги ГК миқдори спектрофотометрни қизил нури остида текширилди ва стандарт эгри чизиқ асосида ҳисобланди. Штаммларнинг ГК синтезига скрининг қуйидаги жадвалда берилди (1-жадвал).

1-жадвал

Aspergillus авлодига мансуб замбуруғ штаммларида ГК синтези
(n=5; M±m)

№	Замбуруғ турлари	ГК миқдори, мг/л					
		Суткалар					
		5	7	9	11	12	14
1	<i>Aspergillus clavatus</i>	-	0,2± 0,001	0,35± 0,0001	0,38± 0,0001	0,41± 0,001	0,56± 0,001
2	<i>Aspergillus fumigatus</i>	0,2± 0,001	0,3± 0,001	0,35± 0,001	0,39± 0,001	0,41± 0,001	0,51± 0,001

3	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fzes	0,2± 0,001	0,3± 0,001	0,34± 0,001	0,37± 0,001	0,40± 0,001	0,47± 0,001
4	<i>Aspergillus luchucnsis</i> Zhui	-	0.1± 0,001	0,23± 0,001	0,31± 0,001	0,36± 0,001	0,43± 0,001
5	<i>Aspergillus niger</i> v Tiegh	0,1± 0,001	0,23± 0,001	0,3± 0,001	0,36± 0,001	0,42± 0,001	0,54± 0,001
6	<i>Aspergillus niger</i>	0,2± 0,001	0,27± 0,001	0,3± 0,001	0,35± 0,001	0,4± 0,001	0,54± 0,001
7	<i>Aspergillus caliptratus</i>	0,15± 0,001	0,2± 0,001	0,3± 0,001	0,34± 0,001	0,4± 0,001	0,51± 0,001
8	<i>Aspergillus terreus</i> Thom	0,2± 0,001	0,34± 0,001	0,4± 0,001	0,45± 0,001	0,57± 0,001	0,69± 0,001
9	<i>Aspergillus sp.1</i>	0,1± 0,001	0,21± 0,001	0,32± 0,001	0,37± 0,001	0,44± 0,001	0,54± 0,001
10	<i>Aspergillus sp.2</i>	-	0,14± 0,001	0,25± 0,001	0,33± 0,001	0,4± 0,001	0,52± 0,001

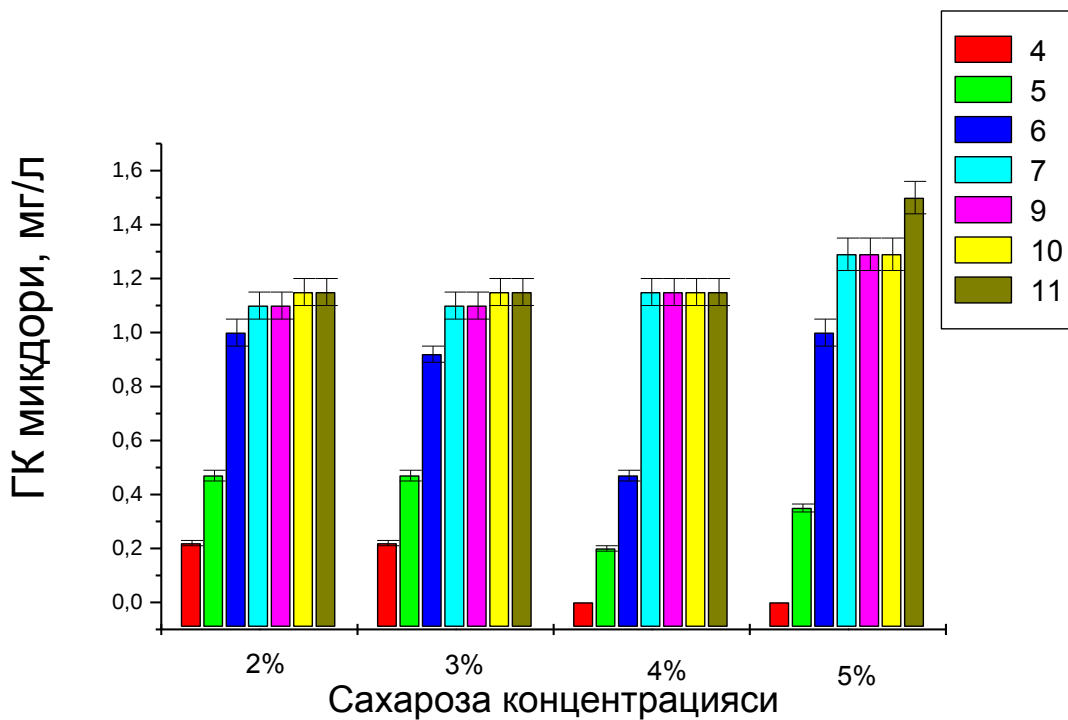
Тажрибалар асосида ГК скринингида максимал даражада синтез қилган *Aspergillus terreus* штамми кейинги тадқиқотлар учун танлаб олинди.

3.2. *Aspergillus terreus* штаммининг сахарозанинг турли концентрацияларида ГК ҳосил қилиши. Маълумки, кўп замбуруғлар айрим фитогормонларнинг продуцентлари ҳисобланиб, улар асосида саноат миқёсида ауксинлар, гиббереллин табиатли моддалар олинади (10). Мазкур тадқиқотларда *Aspergillus terreus* штаммининг биологик фаол моддаларини тадқиқ этилди.

Маълумки, сахароза кўпгина микроорганизмлар учун асосий углерод манбаси ҳисобланади. Тажрибаларимиз давомида *Aspergillus terreus* штаммининг сахарозанинг турли концентрацияларида ГК ҳосил қилиши аниқланди. Тажрибаларда сахарозанинг 2 (назорат), 3, 4, 5 % ли концентрациялари олинди. Белгиланган концентрацияларда озуқа муҳити тайёрланиб, унга *Aspergillus terreus* штамми экилди ва уларнинг култура

суюқлигидан олинган филтратлардаги ГК миқдори динамик усулда 11 кун мобайнида текшириб борилди.

Тадқиқотларда *Aspergillus terreus* штамми юқори фитогормонал фаолликка эга эканлиги аниқланди. Сахарозанинг концентрациялари ГК синтезига турлича таъсир кўрсатиши маълум бўлди. Мазкур штамм ўн кун мобайнида динамик усулда 28°C ҳароратда ўстирилганда суюқ озуқа муҳитида синтезлаган ГК ўстиришнинг 5 суткасида умумий миқдорда 0,56 мг/л ташкил қилган бўлса, максимал миқдордаги синтез ўстиришнинг 10 чи суткасида кузатилди (6,3 мг/л) (5 - расм).

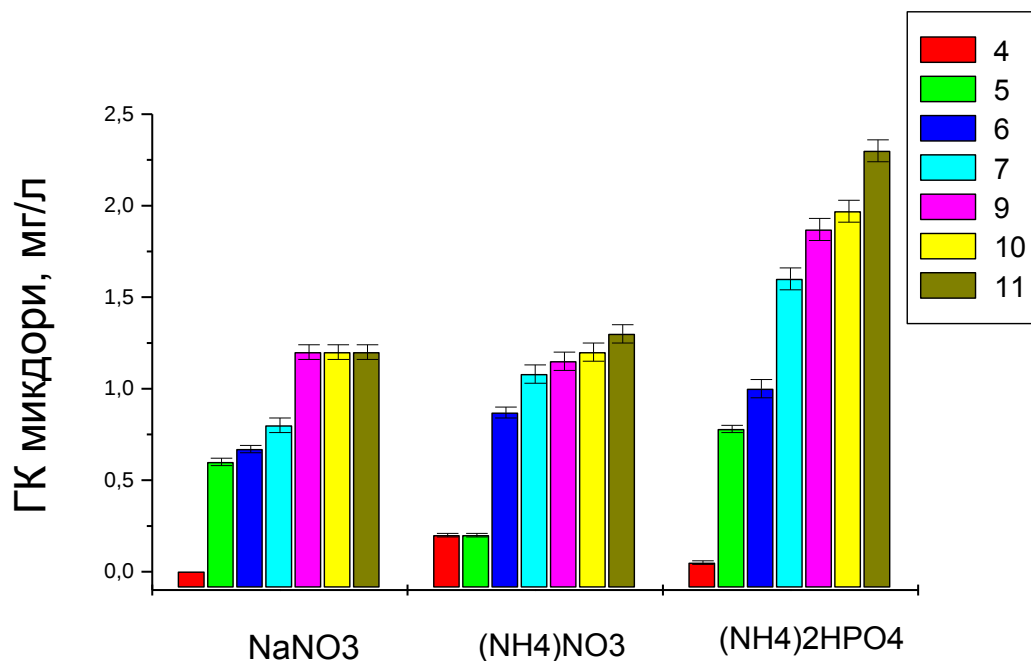


5–расм. *Aspergillus terreus* штаммининг ўстириш кунларида синтезлаган ГК миқдори. (n=3; M±m)

Тажрибалар асосида шундай хулоса қилиш мумкинки, сахарозанинг ортиб бориши ГК синтезига ижобий таъсир кўрсатади.

3.3. *Aspergillus terreus* ҳар хил азот манбаларида ГК синтези. Кейинги тадқиқотларда *Aspergillus terreus* штаммининг турли азот манбалари таъсирида фитогормонлар ҳосил қилиши ўрганилди. Азот манбалари

сифатида NaNO_3 (назорат), $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4NO_3 тузларидан фойдаланилди. Тажрибалар 11 сутка давомида олиб борилди. Олинган натижалардан шу маълум бўлдики, азот манбаси сифатида $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, NH_4NO_3 тузлари қўлланилганда ҳам фитогормонлар меъёрдагидек синтезланади. ГК синтези азот манбаси сифатида NH_4NO_3 қўлланилганда қуйидагича ҳосил бўлди: ўстиришнинг 5 суткасида 0,2 мг/мл миқдорда синтезланган бўлса, энг юқори даражадаги синтез ўстиришнинг 11 суткасида – 1,3 мг/мл бўлганлиги аниқланди. Азот манбаси сифатида $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ тузи қўлланилганда эса ўстиришнинг 5 суткасида 0,78 мг/мл ГК синтезланган бўлса, максимал даражадаги синтез ўстиришнинг 11 суткасида юқори – 2,3 мг/мл бўлганлиги маълум бўлди (6–расм).



6–расм. *Aspergillus terreus* штаммининг ҳар хил азот манбаларида ҳосил қилган ГК миқдори. (n=3; $M \pm m$)

Тажрибалардан хулоса қилиб айтиш мумкинки, азот манбаси сифатида NH_4NO_3 тузидан фойдаланилганда ГК синтезида кескин ўзгаришлар

кузатилмайди, лекин $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ тузи қўлланилганда бошқа тузлар қўлланилгандан анча юқори даражада ГК синтезланиши кузатилади.

3.4. *Aspergillus terreus* штаммида оксил синтези. Оксилларнинг физик-кимёвий хоссалари улар таркибидаги аминокислота қолдиқларининг радикалларига боғлиқ. Оксиллар кимёвий, физикавий ва биологик хоссалари бўйича бир-бирларидан фарқланадилар.

Оксилларнинг муҳим физик хоссаларидан бири уларнинг оптик жиҳатдан фаол бўлишидир. Улар қутбланган нур сатҳини чап ёки ўнгга оғдира олади. Шунингдек, улар ёруғлик нуруни синдириш, тарқатиш, ултрабинафша нурларни ютиш хусусиятига эга. Оксилларнинг бу хоссаларидан уларнинг миқдорини, молекуляр массасини аниқлашда фойдаланилади.

Оксиллар оқ кристалл (рангли оксиллар ҳам бор-гемоглобин) модда бўлиб, молекуляр массаси 6000 дан бир неча юз далтонгача боради. Оксиллар катта макромолекуляр бўлганлиги учун сувда коллоид эритмалар ҳосил қилади. Улар сувда эриганда молекуласи маълум зарядга эга бўлганлиги учун сувнинг қутбли молекулалари билан ўзаро муносабатда бўлади. Бунда оксил молекуласи сув пардаси (дирол) билан ўралади.

Оксилларнинг эрувчанлиги уларнинг таркибидаги аминокислоталарга ва эритмаларга боғлиқ. Мисол учун, албуминлар сувда ва кучсиз тузли эритмаларда эрийди. Каллоген ва каратинлар кўпчилик эритмаларда эримайди. Эритмаларда оксилларнинг стабил, турғун ҳолатда бўлиши ундаги зарядларга ва гидратли қобиқларга боғлиқ. Эритманинг рН муҳити оксилнинг зарядига бу эса ўз навбатида эрувчанлигига бевосита таъсир қилади.

Барча оксиллар содда ва мураккаб тузилишига қараб икки катта гуруҳга: оддий оксиллар, булар бир компонентли бўлиб, улар гидролиз қилинганда фақат аминокислоталар ҳосил бўлади. Иккинчиси эса мураккаб оксиллар бўлиб, таркибида аминокислота ва қўшимча гуруҳлар бўлади.

Қўшимча модда простетик гуруҳлардан иборат бўлиб, улар липид, углевод, нуклеин кислоталар бўлиши мумкин. Оддий оқсиллар турли хил эритувчиларда эриш хусусиятига қараб бир-биридан фарқ қилади.

Замонавий табиатшунослик фанининг иккита муҳим муаммоларидан бири - тирик ҳужайрада оқсиллар биосинтезидир. Иккинчиси эса ноорганик табиатда инсоният учун келгусида энергия ажратиш элементар зарраларнинг физикавий тадқиқоти асосида амалга ошириши мумкин. Тирик табиатда ҳаётий жараёнларни бошқариш оқсилларни ўрганиш асносида содир бўлади.

Организмнинг тириклик белгиси муайян оқсил ёки оқсиллар комплекси орқали намоён бўлади.

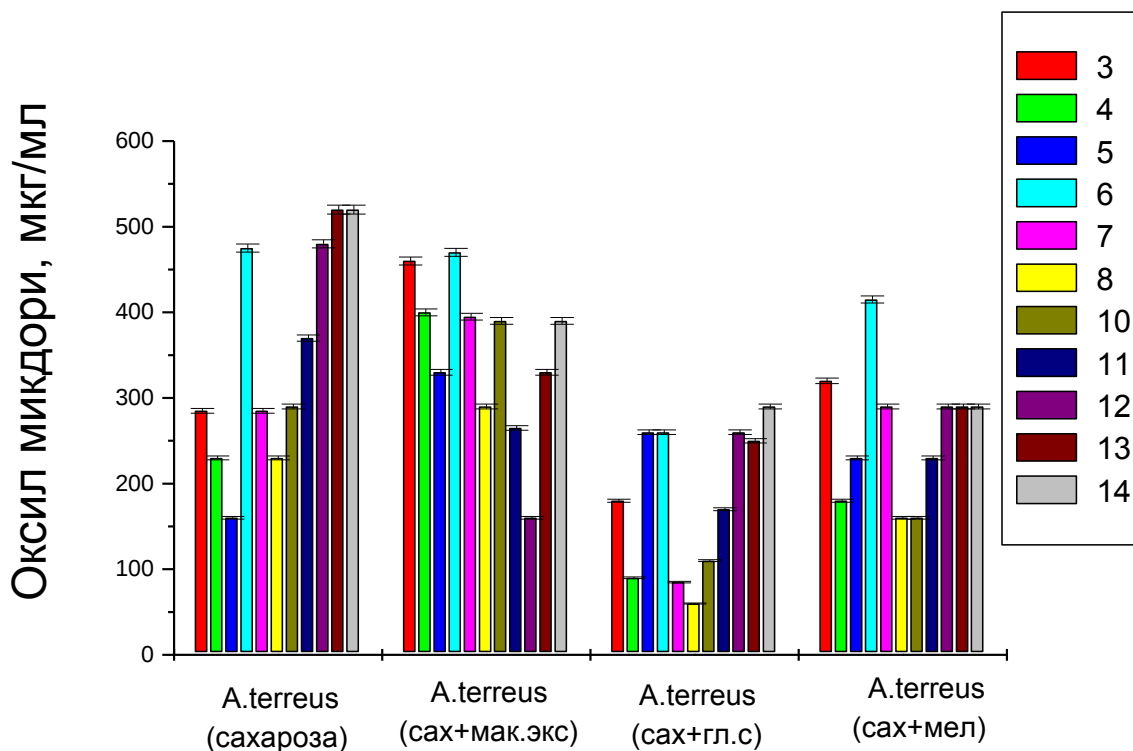
Оқсиллар синтези интенсив равишда амалга ошади. Ҳужайрада оқсилларнинг синтези худди нуклеин кислоталардек, матритса (қолип) асосида амалга ошади. Мазкур жараён мураккаб ва бир неча босқичлардан иборат.

Оқсил биосинтезида 200 дан ортиқ макромолекулалар иштирок этади. Булар оқсиллар ва нуклеин кислоталари бўлиб, фақат аминокислоталарни фаоллаштириш ва ташилиши учун 100 та макромолекулалар зарурлиги аниқланган. Рибосома 60 хил макромолекуладан ташкил ториб, трансляцияда 10 дан ортиқ оқсил турлари иштирок этади.

Тажрибаларда *Aspergillus terreus* штаммининг турли углерод манбаларида оқсил ҳосил қилиши динамик усулда ўрганилди. Углерод манбалари сифатида маккажўҳори экстракти, глюкоза сиропи ва меласса сахароза билан 1:1 нисбатда қўлланилди. Тажрибалар 14 сутка давомида олиб борилди. Тадқиқотларда сахароза ва сахароза+маккажўҳори экстракти қўлланилган вариантларда оқсил миқдорининг бошқа вариантларга нисбатан юқори даражада синтезланганлиги маълум бўлди. Сахароза ишлатилган вариантда ўстиришнинг 3 ва 6 суткаларида 460 ва 470 мкг/мл миқдорида оқсил синтезланган бўлса, сахароза+маккажўҳори экстракти қўлланилган

вариантда ўстиришнинг 13 ва 14 суткаларида 520 мкг/мл миқдорида оксил ҳосил бўлганлиги аниқланди (7–расм).

Тадқиқотлардан хулоса қилиш мумкинки, юқори даражадаги оксил синтези учун углерод манбаси сифатида сахароза ва маккажўҳори экстракти қўлланилиши мақсадга мувофиқ.



7–расм. *Aspergillus terreus* штаммининг турли углерод манбалари биргаликда қўлланилганда ҳосил қилган оксил миқдори. ($n=3$; $M \pm m$)

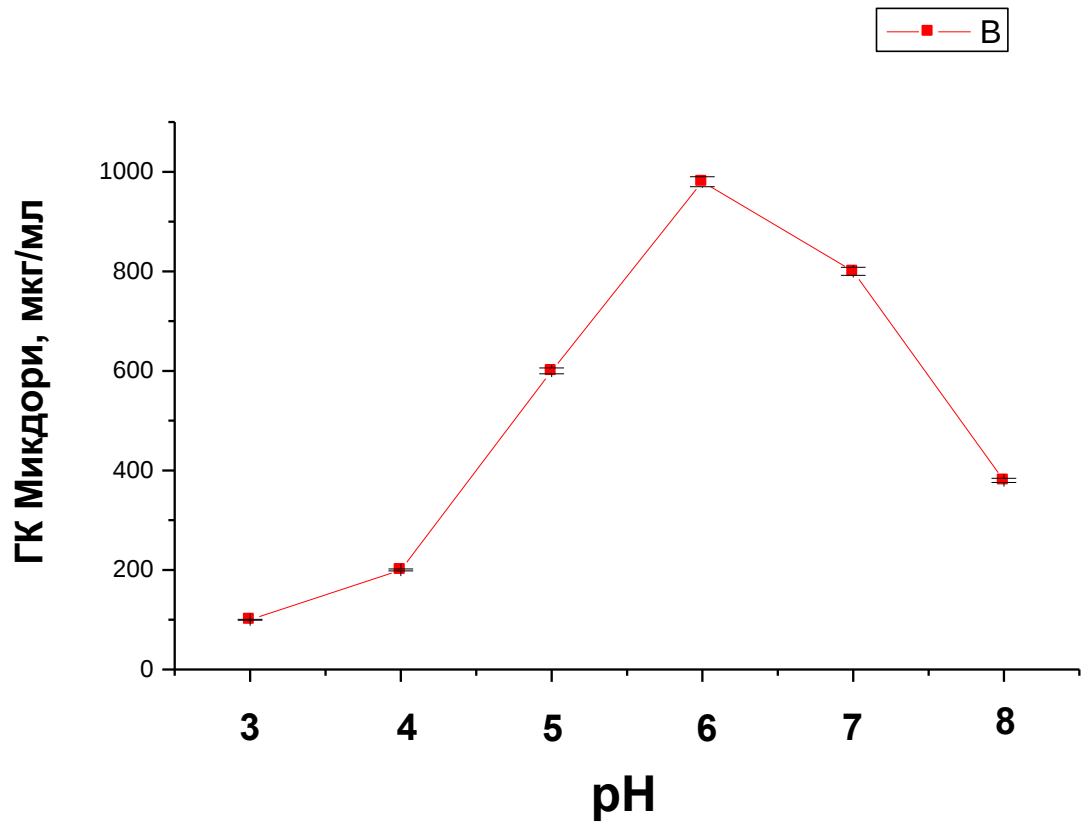
3.5. Мухит рНининг ГК синтезига таъсири. Ҳар қандай микроорганизм ҳужайрасининг ўсиши, ривожланиши ва иккиламчи метаболитлари синтезида муҳим ўрин тутадиган физик омиллардан бири муҳитнинг рНи ҳисобланади. Мухитнинг водород кўрсаткичи муайян бир микроорганизмнинг генетик имкониятини нечоғлик намоён эта олишида асосий жиҳат ҳисобланади.

Маълумки, аксарият фитогормонлар кислотали табиатли ҳисобланиб, уларнинг муайян бир микроорганизм ҳужайраси ёки ҳужайралари мавжуд муҳитларда ҳосил бўлиши, уларнинг инкубация даврида концентрациясининг ортиб бориши айнан ўша микроорганизмларнинг кейинги ўсиши ва ривожланишида муҳим. Чунки, синтезланган ёки миқдори аста ортиб бораётган иккиламчи метаболитлар ўша продуцентнинг ҳужайрасига ҳам салбий таъсир кўрсатади. Шундан келиб чиққан ҳолда, тадқиқот доирасига тортилган *Aspergillus terreus* штаммининг ўсиши ва ГК синтезига муҳит рН ининг ўрнини аниқлаш учун изланишлар олиб борилди.

рН муҳитларини 3, 4, 5, 6 ва 7 қилиб олинди. Тажрибаларда ГК синтезланишини 14 сутка давомида динамик усулда аниқлаб борилди.

Тадқиқотлар давомида штаммларнинг турли рН кўрсаткичларида ГК ҳосил илиши ўрганилди. Муҳит рН и 3, 4, 5, 6 ва 7 деб белгиланди ва 12 сутка давомида динамик усулда текшириб борилди.

ГК миқдори ўстириш кунларида кўтарилиб бориши кузатилди. Энг максимал даражадаги ГК синтези ўстиришнинг 12 суткасида рН муҳити 6.0 бўлган озуқа муҳитида бўлганлиги аниқланди. Энг паст синтез эса рН муҳити 3.0 бўлган озуқа муҳитида кузатилди. Тажриба натижалари 8-расмда кўрсатилди.



8-расм. *Aspergillus terreus* штаммининг турли pH муҳитларида синтезлаган ГК миқдори. (n=3; $M \pm m$)

Кузатувлар натижаларини умумлаштириб, хулоса қилиш мумкинки, штаммларнинг ўсиши ва ривожланиши ҳамда максимал даражада ГК синтез қилиши учун pH муҳити 6-6,5 бўлиши оптимал ҳисобланади.

ХУЛОСА

1. Ўсимлик ризосферасидан ажратиб олинган 10та *Aspergillus* авлодига мансуб микромицетларда ГК бўйича ўтказилган скрининг натижасига кўра *Aspergillus terreus* энг фаол штамм деб топилди.

2. *Aspergillus terreus* штамми юқори даражада ГК синтез қилиши учун сахарозанинг 5% ли концентрацияси оптимал деб топилди, азот манбаси сифатида $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ тузидан фойдаланиш мақсадга мувофиқ бўлиши аниқланди.

3. Озуқа муҳитидаги оксил миқдорини ортишига углерод манбаси сифатида сахароза ва маккажўҳори экстракти қўлланилиши ижобий таъсир кўрсатиши аниқланди.

4. *Aspergillus terreus* штаммларнинг ГК синтез қилиши учун оптимал рН муҳити 6-6,5 бўлиши аниқланди.

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР РЎЙХАТИ

Китоб ва монографиялар:

1. Кобиллов Г.У., Бобово-ризобияльный симбиоз в условиях засоления: Дис. канд. биол. наук. – Ташкент: Институт Микробиологии АН РУз, 2006. – 12 с.
2. Кудоярова Г.Р. Иммунохимические исследования гормональной системы растений: регуляция роста и ответа на внешнее воздействие: Автореф. ... дисс. СПб. – 1996. – 48 с.
3. Лакин Г. Ф. Биометрия. М. - Высшая школа. - 1990. - 352 с.
4. Хмельницкая И.И. Грибы рода *Aspergillus* Mich: Распространение, синтез индольных алкалоидов // Автореферат дисс. ... к.б.н. – Москва, 2003. – Стр. 10 – 15.
5. Храмцова Е.А. Селекция продуцентов: курс лекций / Е. А. Храмцова, Н. П. Максимова. – Минск : БГУ, 2011. – 132 с.

Мақолалар:

1. Бекмаханова Н.Е. и др. Ростстимулирующая активность ризосферных микроорганизмов // Микробиология және вирусология (Казахстан). 2013. – №3(2). – С. 10 – 15.
2. Веселов А.П., Лобов В.П., Олюнина Л.Н. Изменение содержания фитогормонов в ответной реакции растений при тепловом шоке и в период его последствия // Физиология растений. – 1998. – Т.45, №5. – С.709-718.
3. Драговоз И.В. и др. Гормональные соединения, продуцируемые ассоциацией микроорганизмов из ризосферы женьшеня // Физиология и биохимия культ. растений. 2009. Т. 41. № 5.
4. Каримова Ф.А., Абдульмянова Л.И., Файзиева Ф.Х., Гулямова Т.Г. Эндوفитные грибы растений узбекистана как продуценты фитогормонов // Микробиология және вирусология (Казахстан). 2013. – №3(2). С. 41 – 47.

5. Касатова Е.С., Ватолина О.И., Макарова С.В., Смирнов В.Ф. Динамика каталазной, пероксидазной и фенолоксидазной активности гриба-биодеструктора *Aspergillus terreus* // VII Съезд Общества физиологов растений России «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» и Международная научная школа «Инновации в биологии для развития биоиндустрии сельскохозяйственной продукции». Материалы докладов (в двух частях). Часть I. (Нижний Новгород, 4-10 июля 2011 г.). – Нижний Новгород, 2011. – С. 320.

6. Муромцев Г.С., Нестюк М.Н. Количественное колориметрическое определение гибберелловой кислоты // Вестник сельскохозяйственной науки. – 1966. - № 2 – С. 119-122.

7. Насметова С.М., Рузиева Д.М., Расулова Г.А., Каримова Ф.А., Саттарова Р.С., Гулямова Т.Г. Продукция симвастатиона местными штаммами *Aspergillus terreus* в условиях глубоинной ферментации // Микробиология және вирусология (Казахстан). 2013. – №3(2). С. 48 – 55.

8. Полевой В.В. Механизм действия ауксина и его роль в системах регуляции и интеграции у растений // Вестн. СПбГУ. – 1998. – Вып. 2, №10. – С.34-41.

9. Хамидова Х.М., Паттаева М.А., Хамидов Д.М. Оптимизация биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты и гиббереллинов термотолерантным штаммом *Aspergillus terreus* 8 // VII Московский Международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития»: Материалы конгресса 19-22 марта 2013. – М., 2013. – Часть 1. – С. 386-388.

10. *Aspergillus fumigatus* Af293 Pathway: gibberellin biosynthesis IV (*Gibberella fujikuroi*) // (Электрон ресурс). Режим доступа: <http://fungicyc.broadinstitute.org> Дата обращения: 11.05.2015 г.

11. Malonek S, Rojas MC, Hedden P, Gaskin P, Hopkins P, Tudzynski B (2004). The NADPH-cytochrome P450 reductase gene from *Gibberella fujikuroi* is essential for gibberellin biosynthesis. J Biol Chem 279(24);25075-84

12. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent //J.Biol.Chem.1951. V.193. №1. p. 265-275.
13. Hasan H.A.H. Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction // Rostlinna Vyroba, 48, 2002 (3): 101–106.
14. Pattaeva M.A. and Rasulov B.A. Growth and Phytohormones Production by Thermophilic *Aspergillus fumigatus* 2 and Thermotolerant *Aspergillus terreus* 8 Strains in Salt Stress // British J Applied Science & Technol., ISSN:2231-0843,V. 8(3). 2014. [Электрон ресурс].