



**Ўзбекистон Миллий Университети
Биология-тупроқшунослик факультети
Микробиология ва биотехнология кафедраси
1- курс магистранти
Муротов Илҳомжоннинг
Тупроқ микробиологияси фанидан**

КУРС ИШИ

**Мавзу: АЗОТНИНГ ТУПРОҚДА СИМБИОЗ ҲОЛДА
ЯШОВЧИ МИКРООРГАНИЗМЛАР ТОМОНИДАН
ЎЗЛАШТИРИЛИШИ**

**Топширди: Муротов И
Қабул қилди: Файзиев В**

Тошкент-2015

Режа:

Кириш

- 1. Азотофиксатор микроорганизмлар ҳақида умумий тушунча**
- 2. Атмосфера азотининг азотофиксатор микроорганизмлар томонидан ўзлаштирилиши механизми**
- 3. Симбиоз ҳолда яшовчи азотофиксаторларнинг амалий аҳамияти**

Хулоса

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

Кириш

Маълумки, табиий шароитда қишлоқ хўжалиги экинларининг ҳосилдорлиги бевосита ўсимлик генотипига, озуқа моддалар билан таъминланиш ҳолатига ва шунингдек, ўсимлик ўсувчи тупроқ муҳитида фойдали микроорганизмлар, жумладан атмосфера азотини ўзлаштириш хусусиятига эга бўлган бактериялар мавжулигига боғлиқ ҳисобланади. Азотофиксатор микроорганизмлар ўсимликларнинг ўсиш ва ривожланиши жараёнига ижобий таъсир кўрсатади.

Ҳозирги кунда микробиология ва биотехнологияда азотнинг ўзлаштирилиши молекуляр механизмларини ойдинлаштириш, ўз навбатида қишлоқ хўжалиги экинларининг ҳосилдорлигини кимёвий минерал ўғитлардан фойдаланмаган ҳолатда ошиширишга эришига қаратилган янги, самарали азотофиксатор микроорганизм штамmlарини яратиш устида генетик тадқиқотлар олиб борилмоқда.

1. Азотофиксатор микроорганизмлар ҳақида умумий тушунча

Азотофиксатор микроорганизмлар (*azot* ва француз тилида *fixateur* – *боғлаб олувчи* деган сўзлардан олинган) – бактерия ва кўк – яшил сувўтлари турларидан ташкил топган бўлиб, бу микроорганизмлар атмосфера азотини ўзлаштириш хусусиятига эга ҳисобланади. Азотофиксатор микроорганизмлар орасида анаэроб шароитда, сув таги қатламларида тарқалган *Clostridium* авлодига мансуб бактерия турлари, метан ҳосил қилувчи ва фотосинтезлаш хусусиятига эга бактерия турлари мавжуд ҳисобланади.

Аэроб шароитда яшашга мослашган азотофиксаторлар орасида *Azotobacteriaceae*, *Azotobacter* авлоди вакиллари ва шунингдек *Anabaena*, *Amphanizomenon*, *Nostoc*, *Microcystes*, *Nodularia*, *Qlaecapsa* кўк – яшил сувўтлари турлари муҳим ўрин тутди.

Бундан ташқари *Chlorobium*, *Chromatium* каби бир қатор бактериялар ҳам азотофиксаторлар сифатида фаолликка эга ҳисобланади. Ер шари

гидросфера қобиғида ҳар йили сув ўтлари фаоллиги остида ўртача 10 000 000 тонна атмосфера азоти ўзлаштирилади [http://lopatin.academic.ru].

Азот (N_2) атмосфера ҳавосининг ҳажмий жиҳатдан ~80% қисмини ташкил қилиб, ўсимликлар ҳаёт фаолияти учун муҳим аҳамиятга эга ҳисобланган, таркибида азот мавжуд бўлган аминокислоталар, нуклеотидлар каби моддаларни синтезлаш учун атмосфера азотини бевосита, тўғридан – тўғри ўзлаштириш хусусиятига эга эмас.



Дуккакли ўсимликлар илдизида азотни боғлаб олувчи микроорганизмлар ҳосил қилган тугунакнинг кўриниши.

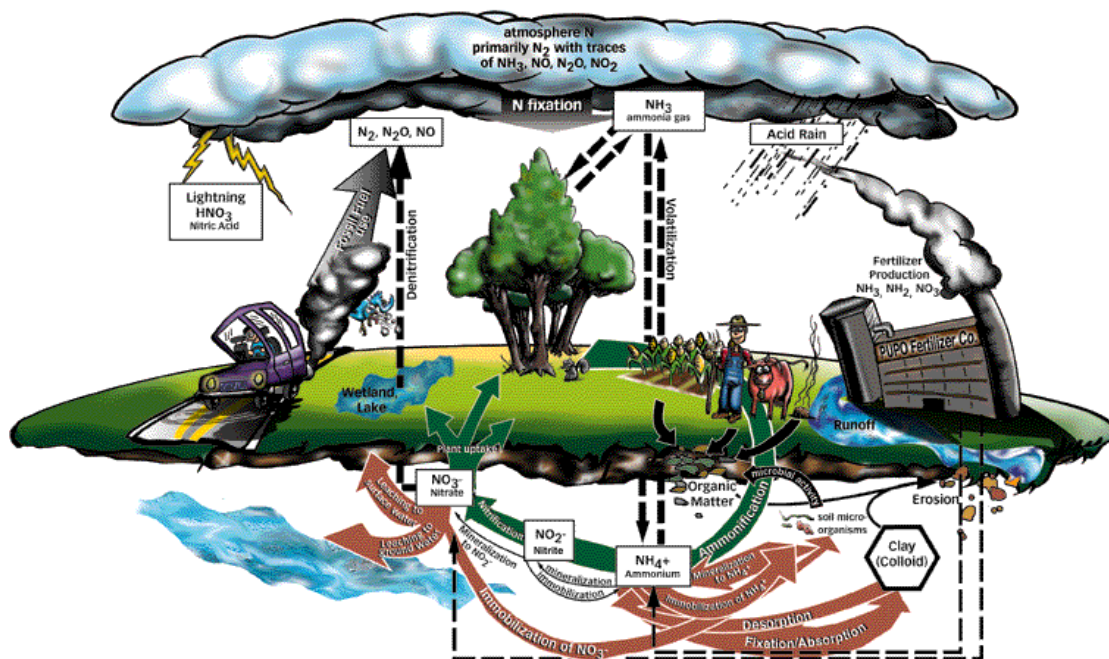
Симбиоз ҳолатда яшовчи, азотофиксатор микроорганизмлар дуккакли ўсимликлар илдизидан ташқари, *актинориз симбиоз* шаклида ҳам қайд қилинади. Жумладан, 8 та авлодни ташкил қилувчи *Frankia* актиномицетлар бутасимон ўсимликлар ва ҳатто дарахтсимон ўсимликлар илдизида симбиоз ҳолатда яшайди ва юқори даражада азотни ўзлаштириш фаоллигига эга ҳисобланади. Масалан, 1896 – йилда қандағоч дарахти (*Alnus* авлодига мансуб) илдизида атмосфера азотини ўзлаштирувчи – *Frankia* авлодига кирувчи актиномицетлар тугунак ҳосил қилиши кузатилган шароитда нисбатан яхши ўсиши ва ривожланиши аниқланган. Кейинги даврларда

бошқа бир қатор ўсимлик турларида – жумладан, малина, чаканда каби ўсимлик илдизларида ҳам ушбу кўринишда симбиоз ҳолатда яшовчи микроорганизмлар мавжудлиги аниқланган. Бироқ, бу ўсимлик илдизида симбиоз ҳолатда яшовчи атмосфера азотини ўзлаштирувчи микроорганизмларнинг тутган ўрни батафсил ўрганилмаган.

Шунингдек, чўл – адир шароитида ўсувчи *Kallar grass (Leptochloa fusca (L.) Kunth.)* илдизида ҳам азотофиксатор бактерия – *Azoarcus* симбиоз ҳолатда яшаши аниқланган.

2. Атмосфера азотининг азотофиксатор микроорганизмлар томонидан ўзлаштирилиши механизми

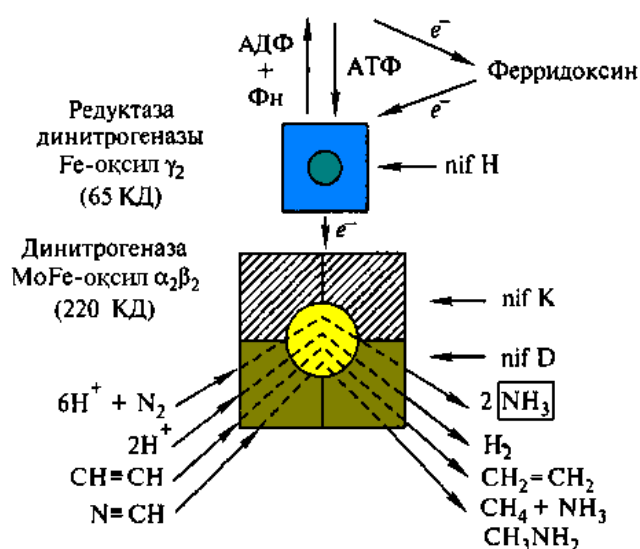
Азотфиксация – атмосфера азотини (N_2), азотофиксаторлар, яъни азотни ўзлаштирувчи микроорганизмлар таъсирида ўсимликлар ўзлаштирадиган шаклига айлантириш жараёни ҳисобланади. Бунда дастлаб атмосфера азоти аммиак кўринишида боғлаб олинади. Бу жараён эса N_2 ($N \equiv N$) молекуласи таркибидаги учбоғни парчалаш учун сезиларли даражада катта энергия талаб қилади. Азотнинг биологик ўзлаштирилишида энергия сарфи бевосита АТФ ҳисобига амалга ошади. Дунё миқёсида озиқ – овқат саноати ва қишлоқ хўжалигида ҳар йили тахминан 100 000 000 тонна боғланган азот талаб қилинади. Буда қишлоқ хўжалигида экинларнинг азотга бўлган эҳтиёжининг тахминан 50% миқдори синтетик, кимёвий ўғитлар ҳисобига таъминланади.



Қолган қисми эса эркин атмосфера азотини ўзлаштирувчи азотофиксатор (диазотроф) бактериялар – *Rhizobium*, *Frankia*, *Azospirillum*, *Azobacter* ва цианобактериялар фаолияти ҳисобига таъминланади. Эукариот организмлар атмосфера азотини бевосита ўзлаштириш қобилиятига эга эмас. Ҳозирги кунда қишлоқ хўжалиги амалиётида фойдаланиладиган азотофиксатор микроорганизмлар асосан иккита авлодга мансуб ҳисобланади – *Rhizobium* ва *Bradyrhizobium*. Бу грамм мусбат, таёқчасимон бактериялар асосан дуккакли ўсимликлар билан симбиоз ҳолатда фаолият кўрсатади. *Rhizobium* ўсимлик илдиз хужайрасига киришидан кейин бир қатор ўзгаришларга учрайди ва илдизда тугунак ҳосил қилади. Илдиз тугунаги ички қисмида бактерия пролиферацияга учрайди ва хужайра деворига эга бўлмаган шаклларга ўтади. Тугунак бактериялари атмосфера азоти билан нитрогеназа ферменти ёрдамида боғланади. *Rhizobium* ва ўсимлик ўртасидаги симбионт муносабат икки томонлама фойдали ҳисобланади. Ўсимлик илдизида тугунак ички қисмида нитрогеназа ферменти кислороднинг токсик таъсиридан ҳимояланган. Биринчидан, тугунак ички қисмига кислород деярли қирмайди, иккинчидан эса тугунак ички қисмида кислород

леггемоглобин оксил молекуласи ёрдамида боғлаб олинади. Ушбу кислородни боғлаб олувчи оксилнинг гем қисми бактерия томонидан синтезланади, глобин қисми эса ўсимлик геноми томонидан кодланади. Ўсимлик бевосита фотосинтез жараёнида ҳосил бўлган осон ўзлаштирувчи углерод билан бактерия эҳтиёжларини таъминлайди. Диазотроф бактерияларга биологик ўғит сифатида қизиқиш генларни ажратиб олиш ва модификация қилиш усуллари ўзлаштирилганидан кейин ортиши кузатилади, бу ҳолат бевосита атмосфера азотининг ўзлаштирилиши жараёнини молекуляр механизмларини ойдинлаштириш имконини берган. Бунда айрим биотехнолог тадқиқотчилар томонидан эркин азотни ўзлаштирувчи бактериялар генини ўсимлик геноми таркибига киритиш орқали қишлоқ хўжалиги экинлари ҳосилдорлигини ошириш йўналишида ҳам тадқиқотлар олиб борилган.

Юқорида таъкидланганидек, атмосферада эркин ҳолатдаги молекуляр азот нитрогеназа ферменти таъсирида катализланади. Нитрогеназа ферменти учта типдаги оксил молекулаларидан (α , β , γ) ва 2 та кофактор – молибден-темир (Mo-Fe) қисмларидан ташкил топган (1-расм).

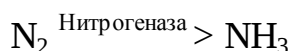


1-расм. Нитрогеназа тизимининг структура тузилиши ва функцияси.

Нитрогеназа иккита асосий суббирликлардан – таркибига II компонент деб аталувчи Mo-Fe кофактор кирувчи катта – динитрогеназа суббирлиги ва таркибига Fe кофактор кирувчи (I компонент) кичик суббирликлардан ташкил топган. Азотнинг (N_2) қайтарилиши унинг Mo-Fe кофактор билан боғланиши таъсирида амалга ошади. Бунда редуктаза ферменти динитрогеназага электронлар узатилиши вазифасини бажаради.

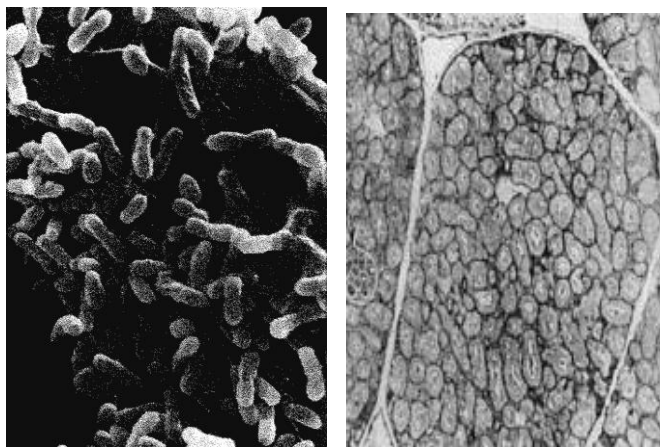
3. Симбиоз ҳолда яшовчи азотофиксаторларнинг амалий аҳамияти

Азот – ҳосилдорликни белгиловчи асосий элементлардан бири ҳисобланади. Ўсимликда азот – оксил, хлорофилл, аминокислоталар, амидлар, алкалоидлар ва бир қатор бошқа моддалар таркибига киради. Ўсимликнинг азотга бўлган муҳтожлигини барг чиқарадиган даврга, яъни ўсимлик ўсишининг биринчи даврига тўғри келади. Азот ўсимликка биринчи навбатда минерал ҳолатда, нитратли ва аммонийли тузлар (NO_3 аниони ёки NH_4 катиони) ҳолатида сўрилади. Бу бирикмалар тупроқдаги органик моддаларни минералланиш жараёнида, минерал ўғитлар билан ўғитлаш, ҳаводаги бирикмаларни ёмғир орқали ювилиши, момақалдирок натижасида ҳосил бўлган азотли бирикмаларин чўкиши орқали дастлаб тупроққа кейин эса ўсимликка етиб боради. Тупроқни азот билан таъминловчи асосий манба – атмосферадаги молекуляр азотни биологик ўзлаштирилиши ҳисобланади. Маълумки молекуляр азот ўсимлик томонидан тўғридан – тўғри қабул қилина олмайди. Планетамизда молекуляр азотни ютиш нитрогеназа ферменти синтез қила оладиган микроорганизмлар иштирокида амалга ошади. Юқорида таъкидланганидек, нитрогеназа молекуляр азотни аммиакга айлантириб берадиган фермент ҳисобланади:



1888 йилда М.Бейерник томонидан тоза ҳолда ризобийлар авлодига мансуб туганак бактерия ажратиб олингандан кейин, бу бактерияларни туганак ҳосил қилиши ва дуккакли ўсимликларни азот билан таъминлаши

ўрганилган. Туганак бактериялар – ўзига хос микроорганизмлар бўлиб, уларнинг биологияси сапрофит ҳолатда тупроқнинг таъсирида ва ўсимлик билан симбиоз ҳолатда ўрганилган.



2-расм. Бугдой илдизи устки қисмида мавжуд бўлган азот фиксацияловчи микроорганизмлар (А) ва азот фиксацияловчи микроорганизмлар билан тўлган ўсимлик илдиз тугунагининг кўриниши (Б).

Тугунак бактериялар аэроб гетеротроф микроорганизмлар бўлиб, ҳар хил табиий ва синтетик озуқа моддаларида яхши ўсиб, ривожланади. Ўсиш тезлиги бўйича туганак бактериялар икки гуруҳга бўлинади: тез ўсувчи ва секин ўсувчи. Тез ўсувчи туганак бактериялар генерация даври 2-4 соат, секин ўсувчилариники эса 6-8 соатни ташкил қилади. Микроорганизмлар асосида тайёрланган биоўғит препаратлари тупроқ ҳосилдорлигига бевосита таъсир этиши қайд қилинган. Биоўғит препаратлари тупроққа солинганда ўсимлик илдизи атрофидаги микрофлора ўзгариши кузатилади. Бундай шароитда микроорганизмларни умумий сони ортади ва баъзи бир гуруҳ микроорганизмлари орасидаги нисбат ўзгаради.

Россияда ишлаб чиқарилган «Ризобакт СП» биоўғити қўлланилганда тупроқ ҳосилдорлиги кескин ортиши кузатилган. Жумладан, ушбу биоўғит таъсирида ўсимлик илдизи атрофида атмосфера эркин азотини ўзлаштирувчи микроорганизмлар миқдори ортиши билан биргаликда макро ва

микроэлементларнинг ўсимлик томонидан ўзлаштирилиши даражаси ҳам ортиши қайд қилинган.



3-расм. «Ризобакт СП» биоўғити (Россия) қўлланилган ва назорат гуруҳи тупроқлари шароитларида ўстирилган ўсимликларнинг ривожланишидаги фарқланишлар.

Нитрагин – туганак бактериялар асосида тайёрланган дастлабки биопрепаратлардан бири ҳисобланади (Германия, 1896 й.).



4-расм. Саноат миқёсида нитроген ўғит ишлаб чиқариш биотехнологик қурилмаси (Германия).

Қишлоқ хўжалигида экинларнинг азотга бўлган талабини қондириш мақсадларида кимёвий азотли минерал ўғитлардан фойдаланиш яхши самара беради. Бироқ, бу кўринишда кимёвий ўғитлардан мунтазам равишда фойдаланиш бевосита тупроқ ҳосилдорлиги пасайишига, тупроқлар ифлосланишига олиб келади.

Шунингдек, азотли кимёвий ўғитларни ишлаб чиқариш иқтисодий жиҳатдан нисбатан қимматбаҳо ҳисобланади. Шу сабабли қишлоқ

хўжалигида бактериялар ўғитлардан фойдаланиш масаласи замонавий микробиология ва биотехнология олдига турган долзарб масалалардан бири ҳисобланади.

Ҳозирги кунда азотофиксатор микроорганизмлар биотехнологияси йўналишида бир қатор амалий ютуқлар қўлга киритилган. Масалан АҚШ қишлоқ хўжалигида соя ўсимлиги экин далалари тупроқларининг *Bradyrhizobium japonicum* бактерияси билан ишлов берилиши натижасида ушбу микроорганизм соя ўсимлиги билан симбиоз муносабатда фаолият кўрсатиши ва ўсимлик биомассаси 20-50%гача ортиши аниқланган. Бунда *Bradyrhizobium japonicum* соя ўсимлигида фотосинтез жараёни натижаси ҳосил бўлган углевод билан ўз эҳтиёжини қондиради. Бу кўринишдаги технологиядан фойдаланилганда азотли кимёвий минерал ўғитларга талаб деярли юзага келмайди.

Собиқ Иттифок ҳудудида қишлоқ хўжалигида атмосфера азотини ўзлаштирувчи микроорганизмлардан амалиётда фойдаланиш бўйича дастлабки синов тажрибалари 1950 – йилларда амалга оширилган. Бунда 10 000 000 гектардан ортиқ қишлоқ хўжалиги экин майдонлари *Azotobacter chroococcum* ва *Bacillus megaterium* диазотроф бактериялари билан ишлов берилган ва натижада турли хил донли экинларнинг ҳосилдорлиги 10-20%гача ортиши қайд қилинган. Бироқ, бу даврда биотехнологик жиҳатдан айрим масалалар ҳал қилинмаганлиги сабабли қишлоқ хўжалигида азотофиксатор микроорганизмлардан кенг миқёсда амалий фойдаланиш йўлга қўйилмаган.

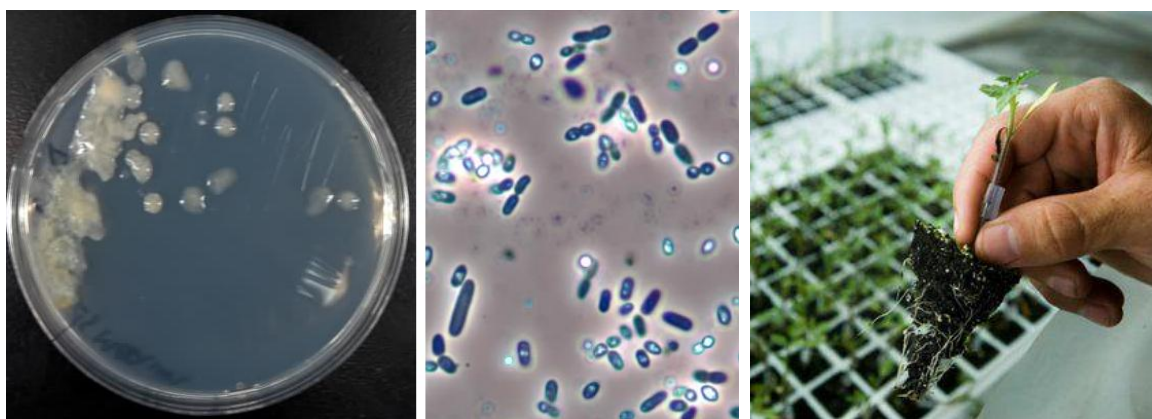
Ўсимликнинг азотга бўлган талабини таъминлаш мақсадида уч хил микроб препаратлари ишлатилади:

- *нитрагин* – туганак бактериялар асосида тайёрланган препарат, асосан дуққакли ўсимликларни озиклантириш учун ишлатилади;
- *азотабактерин* – азотабактериялар асосида тайёрланган препарат;

- диаотроф микроорганизмлар ассоциацияси асосида тайёрланган препаратлар.

Азотобактерин ва диаотроф микроорганизмлар ассоциацияси асосида тайёрланган препаратлар дуккакли бўлмаган ўсимликлар учун ҳам фойдали ҳисобланади.

Юқорида кўрсатиб ўтилган биопрепаратлар Россия, Япония, АКШ, Голландия ва бошқа мамлакатларда ишлаб чиқарилган ва юқори самара билан ишлатилиб келинмоқда.



Ўзбекистон Фанлар Академияси Микробиология институтида маҳаллий штаммлар (иссиқлик ва шўрга чидамли) асосида тайёрланган препаратлар мамлакатимиз қишлоқ хўжалигида кенг қўлланилади. Жумладан, азотобактер хрококким асосида тайёрланган «Ер малҳами» препарати 1999 йил мамлакатимизнинг 110 дан ортиқ хўжаликларида ва 2000 йилда эса 120 дан ортиқ хўжаликларда ижобий синовдан ўтказилган. Ушбу технология асосида Наманган вилояти Тўрақурғон туманида биоазот заводи қурилиб ишга туширилган ва фаолият кўрсатмоқда. Институтда яратилган «микробли ўғит» туганак бактериялар асосида тайёрланган препарат бўлиб, соя ўсимлиги учун кенг қўлланилади.

Азотобактер, микроорганизмлар ассоциацияси ёки туганак бактериялар фақатгина ҳаводаги азотни ўзлаштирибгина қолмасдан, ўсимликнинг ўсиши ва ривожланиши учун зарур бўлган бир қатор физиологик фаол моддалар

ишлаб чиқаради. Айрим ҳолатларда азотобактер кальций фосфатни эритувчи микроорганизмларнинг фаолиятини оширади ва тупроқни фосфорнинг эрувчан тузлари билан бойитади.

Шунингдек, бактериал препаратлар ўсимликларни айрим касалликлардан ҳимоя қилиши ҳам қайд қилинган. Масалан, Л.М.Доросинский ва А.А.Морго фикрига кўра, туганак бактериялар ғўзани вильт билан касалланишининг олдини олади. Е.Н.Мишустиннинг ёзишича азотобактернинг айрим турлари сезиларли даражада фунгистатик хусусиятга эга бўлган моддалар синтез қилади.

Хулоса

Умуман олганда, азотофиксатор микроорганизмлар аниқ турдаги микроорганизмлар таксономик гуруҳларини ташкил қилмайди. Бу хусусиятга эга микроорганизмлар прокариотларнинг барча гуруҳлари орасида – грамм манфий ва грамм мусбат эубактериялар, цианобактериялар, актиномицетлар ва архебактериялар орасида ҳам кузатилади.

Атмосфера эркин азотини боғлаб олувчи кўпгина микроорганизмлар диазотрофлар ҳисобланади. Айрим азотофиксатор микроорганизмлар, масалан *Rhizobium*, *Frankia* фақатгина ўсимликлар билан симбиоз ҳолатдагина азотни боғлаб олиш хусусиятига эга ҳисобланади. *Azorhizobium*, *Anabaena*, *Nostos* каби микроорганизмлар эса бир вақтнинг ўзида диазаотроф ва ўсимликлар билан симбиоз ҳолатда фаоллик кўрсатиш хусусиятини намоён қилади.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати:

1. Азотфиксаторы. Экологический энциклопедический словарь. Кишинев: Главная редакция Молдавской советской энциклопедии. И.И.Дедю. 1989. [Электрон ресурс]. URL: <http://lopatin.academic.ru>
2. Азотфиксация. Материал из Википедии – свободной энциклопедии. [Электрон ресурс]. URL: <http://ru.wikipedia.org/wiki>
3. Умаров М.М., Кураков А.В., Степанов А.Л. Микробиологическая трансформация азота в почве. М.: ГЕОС, 2007. ISBN 5-89118-315-7
4. Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы / Под ред. Шевелухи В.С. М: «Евразия» 2000.
5. Альберт Сассон Биотехнология «Свершения и надежды» М. Мир 1987.
6. Большой практикум по микробиологии под ред. Селибера Г.Л. М. «Высшая школа» 1962.