



UO‘T: 579.64:632.4:635.64

## POMIDOR ILDIZIDAN ENDOFIT BAKTERIYALARNI AJRATISH, ANIQLASH VA ULARNING *FUSARIUM* PATOGENLARIGA QARSHI ANTOGONISTIK FAOLLIGINI O‘RGANISH

Satimova Shahlo Shuhrat qizi 

“TIQXMMI” MTU huzuridagi Fundamental va amaliy tadqiqotlar instituti tayanch doktoranti

**Annotatsiya.** Ushbu tadqiqotda endofit bakteriyalar pomidor o'simlik ildiz to'qimalaridan ajratib olindi va ularning patogen zamburug'lar (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*)ga qarshi antagonistik faolligi tekshirildi. Ajratilgan bakterial shtammlar tozalandi va MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry) yordamida aniqlandi. *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum*ga qarshi antagonistik faollik laboratoriya sharoitida ikki tomonlama kultura (“*dual culture*”) usuli yordamida baholandi. Bir nechta izolatlar ikkala zamburug'li patogenlarning o'sishiga sezilarli ingibitiv ta'sir ko'rsatdi, bu ularning biologik nazorat agenti sifatidagi salohiyatini ko'rsatadi. Ushbu endofit bakteriyalar barqaror pomidor ishlab chiqarish uchun biofungitsidlarni ishlab chiqishda istiqbolli nomzodlar bo'lib xizmat qilishi mumkinligini ko'rsatadi.

**Kalit so'zlar:** pomidor, biologik nazorat agentlari, endofitlar, antagonizm, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, MALDI-TOF MS.

**Аннотация.** В данном исследовании из корневых тканей томата были выделены эндофитные бактерии, и изучена их антагонистическая активность против патогенных грибов (*Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*). Выделенные бактериальные штаммы были очищены и охарактеризованы с помощью MALDI-TOF MS (масс-спектрометрии с матрично-ассистированной лазерной десорбцией/ионизацией и времяпролетным анализом). Антагонистическая активность против *Fusarium solani* и *Fusarium oxysporum* оценивалась *in vitro* с использованием метода двойной культуры. Несколько изолятов показали значительное ингибирующее действие на рост обоих грибковых патогенов, что указывает на их потенциал в качестве агентов биологического контроля. Эти эндофитные бактерии могут служить перспективными кандидатами для разработки биофунгицидов для устойчивого производства томатов.



---

## AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIKLAR KARANTINI

---

**Ключевые слова:** помидор, агенты биологического контроля, эндофиты, антагонизм, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, MALDI-TOF MS.

**Abstract.** In this study, endophytic bacteria were isolated from tomato root tissues and their antagonistic activity against pathogenic fungi (*Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum*) was assessed. The isolated bacterial strains were purified and characterized using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF MS). Antagonistic activity against *Fusarium solani* and *Fusarium oxysporum* was assessed in vitro using a dual culture method. Several isolates showed significant inhibitory effects on the growth of both fungal pathogens, indicating their potential as biological control agents. These endophytic bacteria may serve as promising candidates for the development of biofungicides for sustainable tomato production.

**Keywords:** tomato, biological control agents, endophytes, antagonism, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, MALDI-TOF MS.

### KIRISH

Pomidor (*Solanum lycopersicum* L.) butun dunyoda eng keng tarqalgan sabzavot ekinlaridan biri bo'lib, tarkibida vitaminlar, minerallar va antioksidantlarning yuqori miqdori tufayli inson ovqatlanishida muhim rol o'ynaydi. Biroq, pomidor yetishtirish ko'pincha patogen zamburug'lar keltirib chiqaradigan turli xil tuproq kasalliklari tufayli cheklanadi. Ular orasida *Fusarium oxysporum* va *Fusarium solani* ildiz so'lishi va ildiz chirishi kasalliklari uchun mas'ul bo'lgan asosiy patogenlar hisoblanadi, bu esa pomidor yetishtirishda hosilning sezilarli darajada yo'qotilishiga olib keladi [1].

Ushbu kasalliklarga qarshi kurash an'anaviy usulda asosan kimyoviy fungitsidlarga asoslangan. Samarali bo'lishiga qaramay, kimyoviy pestitsidlardan haddan tashqari foydalanish atrof-muhitning ifloslanishiga, patogenlarga chidamlilikka va inson salomatligiga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin. Shuning uchun ekologik toza va barqaror kasalliklarni boshqarish strategiyalari tobora ko'proq o'rganilmoqda[2].

O'simlik bilan bog'liq foydali bakteriyalar, ayniqsa endofit bakteriyalar, potentsial biologik nazorat agentlari sifatida katta e'tibor qozonmoqda. Bu mikroorganizmlar o'simlik to'qimalariga zarar yetkazmasdan kolonizatsiya qiladi va o'simliklarning o'sishini rag'batlantirishi, shuningdek, antibiotiklar ishlab chiqarish, ozuqa moddalari va joy uchun raqobat va o'simliklarning tizimli qarshiligini qo'zg'atish kabi turli mexanizmlar orqali o'simlik patogenlarini bostirishi mumkin[3].

Shuning uchun ushbu tadqiqotning maqsadi pomidor o'simliklari bilan bog'liq bakteriyalarni ajratib olish, ularni MALDI-TOF MS yordamida aniqlash va ularning *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum* patogenlariga qarshi antagonistik faolligini baholash hisoblanadi[4].



## AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

### MATERIAL VA USLUBLAR

**Pomidor o'simligi ildizidan endofit bakteriyalarni ajratish.** Pomidor o'simliklari issiqxona sharoitida o'stirilayotgan maydondan olib kelindi. O'simlik to'qimalari tuproq zarralarini olib tashlash uchun oqayotgan suv ostida yaxshilab yuvildi. Sirt sterilizatsiyasi 1 daqiqa davomida 70% etanol yordamida, so'ngra 2-3 daqiqa davomida 1-2% natriy gipoxlorit eritmasi bilan amalga oshirildi va bir necha marta steril distillangan suv bilan yuvildi. Sterillik to'g'ri bajarilganligini tekshirish uchun ohirgi chayish suvidan bir tomchi olib Petri kosachasidagi steril ozuqa muhitiga ekildi (bunda 24-48 soat ichida hech qanday mikroorganizm o'smasligi kerak). Ozuqa muhiti sifatida TSA (Tryptone soya broth medium, Himedia, India) dan foydalanildi. Sterilizatsiya qilingan o'simlik to'qimalari aseptik tarzda mayda bo'laklarga kesildi va steril fiziologik tuz eritmasida yaxshilab bir xil massa holatigacha maydalandi. Ketma-ket suyultirishlar  $10^{-1}$  –  $10^{-6}$  gacha tayyorlandi va namunalar ozuqaviy agar muhitiga 100 mkl hajmda ekib chiqildi. Barcha namunalar  $28^{\circ}\text{C}$  da 24-48 soat davomida inkubatsiya qilindi. Morfologik jihatdan farq qiluvchi bakterial koloniyalar tanlab olindi va har biri alohida yangi ozuqali plastinkalarga takroriy chiziqlar chizish orqali 3 marta qayta ekildi va tozalandi[5].

**MALDI-TOF MS yordamida bakterial izolatlarni aniqlash.** Tozalangan bakterial izolatlar MALDI-TOF MS massa spektrometriya metodi yordamida aniqlandi. Yangi o'stirilgan 18-24 soatlik bakteriya izolyatlari tekshirish uchun laboratoriyaga yuborildi. Namunalar O'zbekiston Respublikasi Prezident Administratsiyasi Huzuridagi Tibbiyot Bosh Boshqarmasining Sanitariya Epidemiologiya Nazorati Boshqarmasi Bakteriologiya laboratoriyasida analiz qilindi.

**Zamburug'li patogenlarga qarshi antagonistik faollikni aniqlash.** Bakterial izolatlarning *Fusarium solani* va *Fusarium oxysporum* patogenlariga qarshi antagonistik faolligi kartoshka-pepton agari muhitida ikki tomonlama kultura usuli yordamida baholandi. Patogen zamburug' namunalar O'zR FA Mikrobiologiya instituti kolleksiyasidan olindi va qayta ekildi. 5-7 kunlik zamburug' kulturasidan olingan 5 mm diametrli mitselial disk ozuqali agar diskining markaziga joylashtirildi. Bakterial izolatlar dastlab suyuq ozuqa muhitida (Nutrient broth) 5 kun mobaynida o'stirildi va zamburug' diskidan taxminan 2-3 sm masofada uzun tayoqcha shaklida chizib olindi. Namunalar  $28^{\circ}\text{C}$  da 7 kun davomida inkubatsiya qilindi. Zamburug' o'sishining ingibirlanishi nazorat zamburug' koloniyasining radiusi va bakteriyalar bilan zamburug' koloniyasi orasidagi o'sish radiusini o'lchash orqali baholandi va ingibirlash foizi hisoblandi[6]. Barcha tajribalar uch takrorda o'tkazildi va natijalar qayd etildi va shunga mos ravishda tahlil qilindi. Bunda quyidagi formuladan foydalanildi:

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100$$

R1 – nazorat (control) variantida zamburug' koloniyasining radiusi (mm)





## AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

R2 - bakteriya bilan birga o'sgan variantda zamburug' koloniyasining radiusi (mm)

### NATIJALAR VA MUNOZARA

Issiqxona sharoitida o'stirilgan sog'lom pomidor ko'chatlari ixtiyoriy tanlab olindi va laboratoriyaga olib kelindi va shu kunning o'zidayoq sterillanib, namunalar Petri idishlaridagi steril ozuqa muhitlariga ekildi. Pomidor o'simligi ildizidan 12 xil turli morfologik tuzilishga ega bo'lgan bakteriyalar ajratib olindi va analiz uchun laboratoriyaga yuborildi, natijada quyidagi ma'lumotlar olindi (1-jadval).

1-jadval.

### Pomidor ildizidan ajratib olingan endofit bakteriyalar MALDI-TOF MS analiz javoblari

| Bakteriya shtamming raqami | Analiz natijasi                   | O'xshashlik darajasi |
|----------------------------|-----------------------------------|----------------------|
| 7.2                        | <i>Rhizobium radiobacter</i>      | 2,04                 |
| 5.4                        | <i>No peaks found</i>             | -                    |
| 6.1                        | <i>Bacillus subtilis</i>          | 1,99                 |
| 10.1                       | <i>Paenarthrobacter aurescens</i> | 2,26                 |
| 10.3                       | <i>No peaks found</i>             | -                    |
| 7.4                        | <i>Brevundimonas diminuta</i>     | 2,27                 |
| 5.3                        | <i>No peaks found</i>             | -                    |
| 7.3                        | <i>Achromobacter xylosoxidans</i> | 2,30                 |
| 5.1                        | <i>No peaks found</i>             | -                    |
| 5.6                        | <i>Bacillus cereus</i>            | 2,11                 |
| 7.1                        | <i>No peaks found</i>             | -                    |
| 10.2                       | <i>No peaks found</i>             | -                    |

Bunda har bir bakteriyaning to'g'risida unga mos keladigan bakteriyaning nomi yozilgan. Masalan: 7.2 raqamli shtamm *Rhizobium radiobacter* bakteriyasiga mos kelishi ko'rsatilgan. Shu qatordagi 2,04 esa o'xshashlik koeffitsiyenti bo'lib, shu raqamli shtamm bakteriya spektrining ma'lumotlar bazasidagi namunalar bilan qanchalik mos kelishini ko'rsatadi. Agar o'xshashlik koeffitsiyenti:

**2.300 – 3.000** - Juda yuqori ishonchlilik, tur darajasida aniq identifikatsiya

**2.000 – 2.299** - Tur darajasida ishonchli identifikatsiya

**1.700 – 1.999** - Turkum (avlod) darajasida identifikatsiya

**< 1.700** - Identifikatsiya ishonchsiz degan ma'nolarni anglatadi.

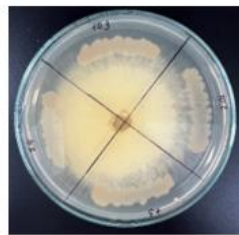
No speaks found – identifikatsiya aniqlanmadi, ba'zi izolatlar MALDI-TOF MS tahlili paytida aniqlanadigan spektrlarni hosil qilmadi va "cho'qqilar topilmadi"



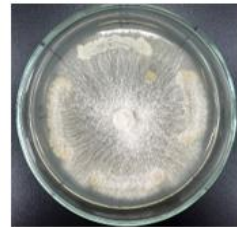
## AGRO KIMYO HIMOYA VA O'SIMLIK KARANTINI

deb qayd etildi, bu esa ishonchli identifikatsiya qilish uchun spektral signallarning yetarli emasligini ko'rsatadi.

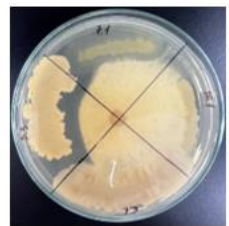
**Antogonistik faollikni baholash.** Bakteriya izolyatlari kartoshka-pepton agar ozuqa muhiti quyilgan, alohida chizib ajratilgan va oldindan nomlari yozilgan Petri idishlariga bir idishga 4 tadan ekib chiqildi va markaziy qismiga zamburug' koloniyasidan kichik dumaloq disk qo'yib chiqildi va termostatda 7 kun davomida 28 daraja issiqda o'stirildi. 7 kundan keyin idishlar termostatdan olindi va yuqorida keltirilgan formula orqali antogonistik faolliklari tekshirildi(1-rasm).



Fusarium solani bilan 10.3, 7.3, 7.4, 10.2 shtammlarining o'zaro ta'siri



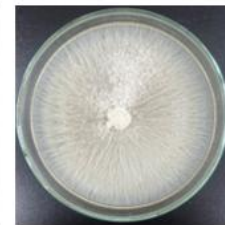
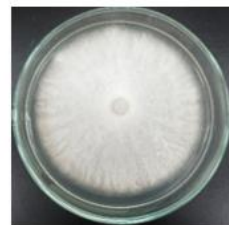
Fusarium oxysporum bilan 10.3, 7.3, 7.4, 10.2 shtammlarining o'zaro ta'siri



Fusarium oxysporum bilan 5.3, 7.1, 6.1, 10.1 shtammlarining o'zaro ta'siri



5.4, 5.1, 5.6 7.2 shtamlarning F.solaniga qarshiligi



Chapda Fusarium solani. O'ngda Fusarium oxysporum o'sgan Petri idishlari (Nazorat)

**1-rasm. bakteriya shtammlarining patogen zamburug'larga qarshi in vitro sharoitida antogonistik faolliklari va eng pastda nazorat patogen shtammlari.**

Yuqoridagi natijalardan kelib chiqib quyidagi jadvalda barcha bakteriyalarning antogonistik aktivliklari (%) hisoblab chiqildi (2-jadval).



2-jadval.

**Ajratilgan bakteriya shtammlarining *F.solani* va *F.oxysporumga* qarshi faolligi (% da)**

| t/r | Bakteriya shtammi | Identifikatsiya nomi              | <i>F.oxysporum</i> ga qarshilik (%) | <i>F.solani</i> ga qarshilik (%) |
|-----|-------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|
| 1   | 7.2               | <i>Rhizobium radiobacter</i>      | 62                                  | 29.36                            |
| 2   | 5.4               | No peaks found                    | 52.5                                | 50.8                             |
| 3   | 6.1               | <i>Bacillus subtilis</i>          | 34.3                                | 45.2                             |
| 4   | 10.1              | <i>Paenarthrobacter aurescens</i> | 22.7                                | 41.7                             |
| 5   | 10.3              | No peaks found                    | 16                                  | 28.6                             |
| 6   | 7.4               | <i>Brevundimonas diminuta</i>     | 15.5                                | 28.6                             |
| 7   | 5.3               | No peaks found                    | 51.5                                | 52.4                             |
| 8   | 7.3               | <i>Achromobacter xylosoxidans</i> | 9.9                                 | 39.3                             |
| 9   | 5.1               | No peaks found                    | 48.8                                | 34.86                            |
| 10  | 5.6               | <i>Bacillus cereus</i>            | 50.22                               | 34.86                            |
| 11  | 7.1               | No peaks found                    | 31.5                                | 34.5                             |
| 12  | 10.2              | No peaks found                    | 13.8                                | 26.2                             |

**XULOSALAR**

Jadvaldan ko'rinib turibdiki, ba'zi bakteriyalar ikkala patogenga qarshi ham juda kuchli faollik ko'rsatgan. Jumladan, 5.1, 7.2, 5.4, 5.6, 7.1, 5.3, 6.1 kabi bakteriya shtammlari ikkala patogenga qarshi ham juda kuchli faolliklar namoyon qilgan. Ba'zilar esa faqat u yoki bu patogenga qarshi kuchli qarshilik ko'rsatgan. Masalan, 7.3 va 10.1 shtammlari *F.solaniga* qarshi kuchli aktivlik ko'rsata olgan.

Olingan natijalarga asoslanib aytish mumkinki, yuqorida keltirilgan 5.1, 7.2, 5.4, 5.6, 7.1, 5.3, 6.1 bakteriya shtammlari har ikkala patogenga qarshi kuchli faollikka ega ekanligi aniqlandi. Bu shtammlar pomidor o'simliklarida *Fusarium* bilan bog'liq kasalliklarni davolash uchun potentsial biologik nazorat agentlari bo'lib xizmat qilishi mumkin.

**ADABIYOTLAR**

1. Janani P., Kabilan M., Poonkodi K. et al. (2025). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.): A nutraceutical treasure. DOI: 10.33545/26174693.2025.v9.i7d.4730
2. Bai V.T., Nayak D.S., Amrutha A.V. (2023). Biocontrol of *Fusarium* wilt using endophytic bacteria. DOI: 10.58537/jorangrau.2023.51.2.05
3. Roy M. et al. (2024). Characterization of tomato seed endophytic bacteria as growth promoters. DOI: 10.5423/PPJ.OA.09.2024.0142
4. Bai Y. et al. (2023). Endophytic bacteria as biological agents to control *Fusarium* wilt. DOI: 10.1016/j.pmpp.2023.101994
5. Dennis C., Webster J. (1971) Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. DOI: 10.1017/S0007153600066588
6. Fravel D., Olivain C., Alabouvette C. (2003) *Fusarium oxysporum* and its biocontrol. DOI: 10.1094/PHYTO.2003.93.9.1059