

**AZOTLI, FOSFORLI O'G'ITLAR HAMDA PESTITSIDLAR KO'P
QO'LLANILADIGAN TUPROQDA YASHAB QOLUVCHI FOYDALI
MIKROORGANIZMLAR**

¹Safarov Husniddin., ²Xalilov Ilxom., ³Abdullayev Anvar., ⁴Aliyev Zafar., ⁴Boboqulov Murodali., ⁵Alamuratov Rayimjon

^{1,2,3,4,5}O'zRFA Mikrobiologiya instituti, Toshkent, O'zbekiston

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8361117>

Annotatsiya. Ilmiy tadqiqot natijalari asosida tuproqqa meyoridan 30% ko'p miqdorda pestitsid va kimyoviy o'g'itlar bilan ishlov berilganda *Bacillus thuringiensis* Ifo shtammi eng yuqori miqdorni $7,29 \times 10^9$ va nisbatan pastroq natijani 70% da $1,28 \times 10^9$ ga yetgani aniqlandi. Bt26 shtammida tajriba o'tkazilgan bakteriyalarga nisbatan eng past miqdorni 70% da $1,06 \times 10^9$ yuqori miqdori esa 30% da $6,65 \times 10^9$ gacha ko'tarilgani aniqlandi. Yuqoridagi ikkala shtammida ham 72 soat davomida suyuq ozuqa muhitida o'stirilgandagi miqdoriga nisbatan tuproqdagi hujayralar soni ortganligi aniqlandi. *A. chroococum* shtammi uchun 70% da 1 gr tuproqdagi hujayralar soni $1,73 \times 10^9$ tani tashkil etdi. *A. brasilense* shtammida ham pestitsid va kimyoviy o'g'itlar miqdorining ko'payishi hujayralar sonini kamayishiga sabab bo'ldi, 70% da esa $2,71 \times 10^9$ gacha kamayganligi aniqlandi. *N. calcicola* 32 shtammida selektiv qattiq ozuqa muhitiga ekilganda petri chashkalarining birontasida kalloniy hosil qilmadi.

Kalit so'zlar: Foydali mikroorganizmlar, pestitsid, kimyoviy o'g'itlar, *Bacillus thuringiensis*, *Nostoc calcicola*, *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*.

Abstract. According to the results of scientific research, it was found that when the soil was treated with 30% more pesticides and chemical fertilizers, the *Bacillus thuringiensis* Ifo strain achieved the highest amount of 7.29×10^9 and a comparatively lower result of 1.28×10^9 at 70%. It was found that the smallest amount was 1.06×10^9 in 70% of the tested bacteria of the Bt26 strain, and the maximum was 6.65×10^9 in 30%. Both of the above strains showed an increase in the number of cells in the soil compared to the number when grown on a liquid nutrient medium for 72 hours. For the *A. chroococum* strain, the number of cells in 1 g of soil at 70% concentration was 1.73×10^9 . In the *A. brasilense* strain, increasing amounts of pesticides and chemical fertilizers caused a decrease in cell number, with 70% found to decrease to 2.71×10^9 . Strain *N. calcicola* 32 did not form callonia in any of the Petri dishes when grown on a selective solid medium.

Key words: Beneficial microorganisms, pesticides, chemical fertilizers, *Bacillus thuringiensis*, *Nostoc Calcicola*, *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*.

Аннотация. По результатам научных исследований установлено, что при обработке почвы на 30% большим количеством пестицидов и химических удобрений штамм *Bacillus thuringiensis* Ifo достиг наибольшего количества $7,29 \times 10^9$ и сравнительно более низкого результата $1,28 \times 10^9$ при 70%. Установлено, что наименьшее количество составило $1,06 \times 10^9$ у 70% протестированных бактерий штамма Bt26, а максимальное — $6,65 \times 10^9$ у 30%. У обоих вышеуказанных штаммов обнаружено увеличение количества клеток в почве по сравнению с количеством при выращивании на жидкой питательной среде в течение 72 часов. Для штамма *A. chroococum* количество клеток в 1 г почвы при 70% концентрации составило $1,73 \times 10^9$. У штамма *A. brasilense* увеличение количества пестицидов и химических удобрений вызывало уменьшение количества клеток, причем у 70% было обнаружено, что оно снизилось до $2,71 \times 10^9$. Штамм *N. calcicola* 32 не

образовывал каллонии ни в одной из чашек Петри при выращивании на селективной твердой среде.

Ключевые слова: Полезные микроорганизмы, пестициды, химические удобрения, *Bacillus thuringiensis*, *Nostoc Calcicola*, *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense*.

Qishloq xo'jaligi mamlakat iqtisodiyotida muhim o'rin tutadi. Zamonaviy intensiv qishloq xo'jaligida o'sib borayotgan dunyo aholisining oziq-ovqat ehtiyojlarini qondirish, ekinlar yetishtirishni ko'paytirish uchun keng miqyosda kimyoviy o'g'itlar va pestitsidlar doimiy ravishda qo'llaniladi. Qishloq xo'jaligi sektori global yalpi ichki mahsulotning uchdan bir qismini tashkil etadi. Biroq, odamlar sonining o'sishi dunyo aholisi 2050 yilga kelib 9,5 milliardga ko'tarilishi taxmin qilinmoqda, bu esa oziq-ovqatga bo'lgan talab yuqori bo'lishiga olib keladi [1]. So'nggi yillarda butun dunyo bo'ylab qishloq xo'jaligi mahsuldorligini oshirish dolzarb muammo bo'lib kelmoqda. O'simliklarning ozuqa moddalariga bo'lgan ehtiyojini ta'minlash uchun kimyoviy o'g'itlar (N, P yoki K dan iborat) haddan tashqari ko'p qo'llanilmoqda. Biroq, kimyoviy o'g'itlardan foydalanish samaradorligi past bo'lganligi sababli bu oziq moddalarning cheklangan miqdori (10-20%) o'simliklar tomonidan o'zlashtiriladi va qolgan qismi tuproqqa erimaydigan birikmalar hosil qilib, tuproq holatining yomonlashishiga olib keladi. Bundan tashqari, og'ir metallar va radionuklidlar kimyoviy o'g'itlarda mavjud bo'lib, ular parchalanishi qiyin, shuning uchun ularni tabiatda doimiy ifloslantiruvchi moddalarga aylantiradi. Haddan tashqari ko'p miqdorda kimyoviy o'g'itlarni qo'llash bilan bog'liq yana bir muhim muammo - bu suv manbalarining evtrofikatsiyasi. Aholi salomatligiga xavf tug'diradigan bu ifloslanish muammolarini bartaraf qilishni, barqaror va ekologik toza texnologiyalarni ishlab chiqishni talab qildi [2]. Shu sababli, barqaror qishloq xo'jaligi amaliyotlarida bioo'g'it sifatida foydali mikroorganizmlarni qo'llash tuproq unumdorligini orttirishi hamda o'simliklarning o'sishini yaxshilashi aniqlangan [3,4,5]. O'simliklardagi mikroblarning kolonizatsiyasi epifitik, endofitik yoki rizosferik bo'lishi mumkin [6]. Bugungi kunda dunyo miqyosida o'simliklarning o'sishini rag'batlantiruvchi mikroorganizmlarga bo'lgan qiziqish va ehtiyoj ortib borayotganini ko'rishimiz mumkin.

Ushbu tadqiqotning maqsadi azotli (ammoniy nitrat), fosforli (ammoniy fosfat) va pestitsid (Mospilan plus 20% ta'sir etuvchi modda Acetamiprid) lar miqdori yuqori bo'lgan tuproqda foydali tuproq mikroflorasining yashovchanligini o'rganishdan iborat.

Tajribada *Bacillus thuringiensis* ning *Bt1fo* va *Bt26*, *Azotobacter chroococcum* 44, *Azospirillum brasilense* 4-13 bakteriyalarining mahalliy shtammlari hamda sianobakteriyalardan *Nostoc calcicola* 32 shtammi foydalanildi.

Ozuqa muhiti tarkibi (gr/l): Standart peptonli ozuqa muhiti (PB) (%): Pepton-1,0; glyukoza- 0,6; NaCl-0,5; K₂HPO₄ -0,05; MgSO₄-0,02, (pH-7,0). Eshbi ozuqa muhiti (gr/l): CaCO₃ - 5; NaCl - 0,2; K₂HPO₄ - 0,1; K₂SO₄ - 0,2; MgSO₄ - 0,2; glyukoza - 10; mikroelement - 0.1; Suv - 1000 ml, (pH-6,8-7,2). Sianobakteriyalar uchun BG-11 ozuqa muhiti (gr/l) NaNO₃ - 1,5; K₂HPO₄ · 3H₂O - 0,04; MgSO₄ · 7H₂O - 0,075; CaCl₂ · 2H₂O - 0,05; Na₂CO₃ - 0,02; limon kislota - 0,006; EDTA · Na₂ - 0,001; Fe³⁺/NH₄⁺ tsitrat (jigarrang, 16-19% Fe) - 0,006; mikroelement (мл) - 1,0; 0,5M HEPES с pH 7,5* (мл) – 40; distrillangan suv 1000ml. Mikroelement tarkibi (gr/l): H₃BO₃ - 5.0; Na₂MoO₄ · 2H₂O - 5.0; KJ – 0.5; ZnSO₄ · 7H₂O - 0,2; MnSO₄ · 4H₂O – 3.0; NaBr – 0.5 [7].

Kulturalar suyuq standart ozuqa muhitida 150 aylanma/daqiqa tezlikdagi tebratgichda, 28-30°C haroratda 72 soat davomida o'stirildi. Sianobaktiriyalar esa BG-11 selektiv ozuqa muhitida o'stirildi. Mikroorganizmlar soni Garayeva kamerasi bilan aniqlanadi. O'rtacha bir gektar maydonga bir yil davomida azotli o'g'itlar 250 kg/ga, fosforli 200 kg/ga, kaliyli 150 kg/ga va pestitsidlar esa 300 g/ga qo'llaniladi [8]. Tadqiqotda ammoniy nitrat, kaliy xlorid, ammoniy fosfat va pestitsidlardan - Mospilan plus 20% ishlatildi. Yillik qo'llaniladigan miqdoridan 10%, 30%, 50% va 70% ga, ko'p kimyoviy o'g'itlar aralashmasi qo'shilgan tuproq namunasidan 20g dan petri chashkalariga solib avtoklavda sterilizatsiya qilindi, bunda pestitsid parchalanib ketmasligi uchun sterilizatsiyadan keyin qo'shildi. Qo'llaniladigan o'g'itlar miqdorini aniqlashda tuproqning 10 sm gacha bo'lgan yuzasi hisoblandi. Tadqiqot uchun olingan tuproq namunasining zichligi $1\text{sm}^3 = 0,8667\text{g}$. Suyuq ozuqa muhitida o'stirilgan har bir shtammdan 3 ml dan olib besh xil konsentratsiyali kimyoviy o'g'itlar qo'llanilgan petri chashkasidagi tuproqqa solinib bir oy davomida kuzatildi. Tuproqning namlik miqdori 60%ni tashkil etishi nazorat qilindi, 30 kun o'tgandan so'ng har bir namunadan 1g dan tuproq olib 10 ml steril suvda eritildi. 10 marta (10^{-11}) suyultirildi va suspenziyadan 1 ml dan olib qattiq selektiv ozuqa muhitida ekildi. Termostatda 48 soat davomida o'stirilgan mikroorganizmlar soni Makkredi jadvaliga muvofiq aniqlanadi [9,10,11].

Tuproq tarkibida azotfiksatsiyalovchi bakteriyalarning bo'lishi o'simlik hosildorligini oshiruvchi omillardan biri hisoblanadi. Bu bakteriyalarning faolligiga qishloq xo'jaligida ko'p qo'llaniladigan kimyoviy o'g'itlar va zararkunanda hasharotlarga qarshi qo'llaniladigan pestitsidlar ta'siri ushbu tadqiqotda o'rganildi. Peptonga asoslangan ozuqa muhiti deyarli barcha mikroorganizmlarni o'stirish uchun eng qulay muhit hisoblanadi. Shu ozuqa muhitida 3 kun davomida o'stirilgan 1sm^3 hajmdagi hujayralar soni *Bt1* shtammida $4,6 \cdot 10^7$, *Bt26* shtammida esa $9,2 \cdot 10^7$ ni tashkil etdi. 7 kun davomida o'stirilgan *N.calicicola* 32 shtammida titr soni kam bo'lib $2,8 \cdot 10^7$ ni, diazototrof bakteriya *A.chroococum* shtammida $3,9 \cdot 10^7$ va eng yuqori titr esa *A. brasiliense* shtammida $1,12 \cdot 10^8$ ni tashkil qildi.

Yuqoridagi keltirilgan shtamlarning turli xil konsentratsiyali kimyoviy o'g'itlar va pestitsidlar qo'llangan tuproqda 30 kun davomida hujayra sonini o'zgarishi ko'rib chiqildi. Quyidagi jadvalda 1gramm tuproqdagi hujayralar soni keltirilgan (1-jadval).

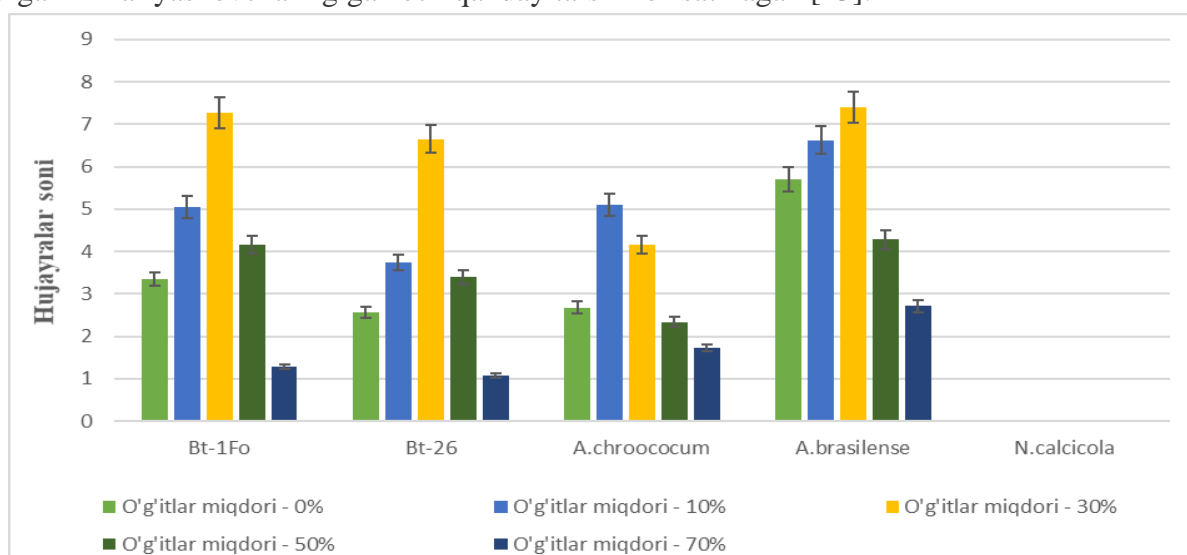
1-jadval

Kimyoviy o'g'itlar va peptitsidlar bilan ishlov berilgan 1 gr tuproqdagi hujayralar soni.

Kimyoviy o'g'itlar konsentratsiyasi	<i>Bt-1Fo</i>	<i>Bt-26</i>	<i>A.chroococum</i>	<i>A.brasiliense</i>	<i>N.calicicola</i>
0%	$3,35 \cdot 10^9$ ± 0.02	$2,56 \cdot 10^9$ ± 0.005	$2,68 \cdot 10^9$ ± 0.017	$5,7 \cdot 10^9$ ± 0.051	0
10%	$5,05 \cdot 10^9$ ± 0.03	$3,74 \cdot 10^9$ ± 0.036	$5,1 \cdot 10^9$ ± 0.028	$6,63 \cdot 10^9$ ± 0.047	0
30%	$7,28 \cdot 10^9$ ± 0.05	$6,65 \cdot 10^9$ ± 0.043	$4,15 \cdot 10^9$ ± 0.024	$7,4 \cdot 10^9$ ± 0.054	0
50%	$4,16 \cdot 10^9$	$3,4 \cdot 10^9$	$2,33 \cdot 10^9$	$4,28 \cdot 10^9$	0

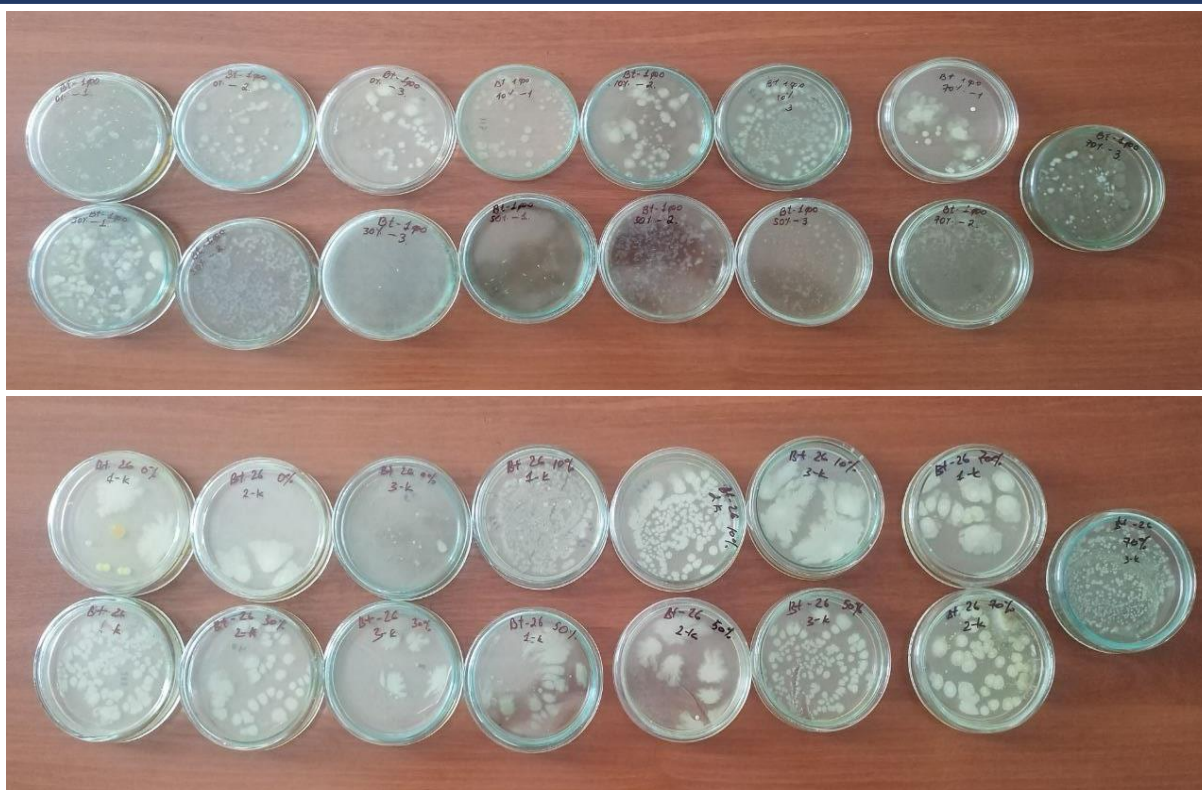
	± 0.025	± 0.011	± 0.008	± 0.038	
70%	$1,28 \cdot 10^9$	$1,06 \cdot 10^9$	$1,73 \cdot 10^9$	$2,71 \cdot 10^9$	0
	± 0.019	± 0.009	± 0.013	± 0.026	

Tadqiqot natijalaridan shuni ko'rishimiz mumkinki turli xil konsratsiyali o'g'itlar bilan ishlov berilgan tuproqdan 10^{-9} marotaba strillangan suv bilan suyultirilgan *N. calcicola* 32 shtammi sianobakteriyalari uchun selektiv ozuqa muhiti hisoblangan agarli BG-11 da 28 C° harorat, 2500 lyuks yorug'likda, 10 kun davomida o'stirilganda petri chashkasida bironta ham koloniya hosil qilmaganligi aniqlandi. Pestitsidlar sianobakteriyalarga turlicha tasir qilishi aniqlangan. Misol uchun *Nostoc elliposporum*, *Scytonema simplex*, *Tolypothrix tenuis* va *Westiellopsis prolifica* kabi sianobakteriyalarga Bagalol (fugitsid), Thiodan (insektitsid) eng zararli deb topilgan, Phorate, Mankozeb (insektitsid)lar esa mikroorganizmlar o'sishiga va fermentlar faolligiga deyarli ta'sir ko'rsatmagan [12]. *Azospirillum* avlodiga mansub bakteriya shtammlarining peptitsidlarga ta'siri o'rganilganda karbofuran bakteriyalar o'sishini faollashtirgan, butaxlor esa ularning soni kamayishiga sabab bo'lgan, diuron va xlorotoluron esa mikroorganizmlar yashovchanligiga hech qanday ta'sir ko'rsatmagan [13].



1-rasm. Hujayralar soning kimyoviy o'g'itlar va pestitsidlar tasirida o'zgarishi.

Hujayralar soni boshqa mikroorganizmlarga nisbatan kamroq *A. chroococum* da kuzatildi, ya'ni 70% li kimyoviy o'g'italar solingan tuproqda $1,73 \cdot 10^9$ ta, 10% da esa $5,1 \cdot 10^9$ ta nisbatan yuqori natija kuzatildi. Bunda 10% dan 70% ga qarab hujayralar soninig kamayganligini ko'rishimiz mumkin (1-rasm). *A. brasilense* shtammiida eng yuqori zichlikni tashkil qilib, 0% da $5,7 \cdot 10^9$ tani tashkil etib, 30% $7,4 \cdot 10^9$ ga yetgan 50% va 70% yana zichlik kamayganligi aniqlandi. Yuqorida keltirilgan bakteriyalar azotni fiksatsiya qilish xususiyati borligi tufayli ular uchun azotsiz ozuqa muhitidan foydalanildi.



2-rasm. Qattiq uzuqa muhitida o'stirilgan bakteriya koloniyalari.

Tuproqda yashovchi bakteriya hisoblangan, zararkunanda hasharotlar uchun entomotsid ta'sirga ega bo'lgan *Bacillus thuringiensis* avlodiga mansub *Bt1Fo* mahalliy shtammida 0%, 10%, 30%, 50% va 70% konsentratsiyalariga mos ravishda $3,35 \cdot 10^9$ ta, $5,05 \cdot 10^9$ ta, $7,28 \cdot 10^9$ ta, $4,16 \cdot 10^9$ ta va $1,28 \cdot 10^9$ tani tashkil etdi. *Bt26* shtammida 30% da $6,65 \cdot 10^9$ ta, 70% da esa boshqa shtamlarga nisbatan olganda ham eng kam zichlik $1,06 \cdot 10^9$ ta hujayra hosil qilganligi aniqlandi (2-rasm).

Tadqiqot natijalariga asoslanib yuqorida keltirilgan bakteriya shammlarini turli xil konsentratsiyadagi azotli, kaliyli va fosforli o'g'itlar hamda pestitsidlar bilan ishlov berilgan tuproqda hujayralar sonini yuqori darajada saqlab qolishi aniqlandi. Bundan tashqari ushbu bakteriya shtammlarining o'simliklari o'sishini rag'batlantiruvchi fitogarmonlar sintez qilish xususiyati ham aniqlangan [14]. Olingan natijalarga asoslangan holda tadqiqot o'tkazilgan bakteriya shtammlar asosida kompleks biopreparat ishlab chiqarish istiqbolli manba hisoblanadi.

REFERENCES

1. Green R.E., Cornell S.J., Scharlemann J.P.W., Balmford A., 2005. Farming and the fate of wild nature. *Science* 307, 550–555.
2. Santoyo G., Orozco-Mosqueda M.C., Govindappa M., 2012. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. *Biocontr. Sci. Technol.* 22, 855–872.
3. Adesemoye A.O., Torbert H.A., Kloepper J.W., 2009. Plant growth promoting rhizobacteria allow reduced application rates of chemical fertilizers. *Microb. Ecol.* 58, 921–929. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9531-y>.
4. Bertola M., Mattarozzi M., Sanangelantoni A.M., Careri M., Visioli G., 2019. PGPB colonizing three-year biochar-amended soil: towards biochar-mediated biofertilization. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 19, 841–850.

5. Ullah N., Ditta, A., Khalid A., Mehmood S., Rizwan M.S., Ashraf M., Mubeen F., Imtiaz M., Iqbal M.M., 2019. Integrated effect of algal biochar and plant growth promoting rhizobacteria on physiology and growth of maize under deficit irrigations. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 20, 346–356. <https://doi.org/10.1007/s42729-019-00112-0>.
6. Rossmann M., Sarango-Flores S.W., Chiamonte J.B., Kmit M.C., Mendes R., 2017. Plant microbiome: composition and functions in plant compartments. In: Pylro, V., Roesch, L. (Eds.) *The Brazilian microbiome*. Springer, Cham, pp. 7–20.
7. Murugalatha N Kannan, Sonam Sethi, Anoop Badoni, Vinay Chamoli and Naveen Chandra Bahuguna. Isolation and characterization of bacterial isolates from agriculture field soil of Roorkee region / *Journal of Pharmacognasy and Phytochemistry*. 2018; SP5: 108-110
8. M. U. Karimov. “O`g`it qo`llash tizimi” darslik “Navro`z” nashriyoti, 2017-280 b.
9. И.Л.Дикого Выделение чистых культур микроорганизмов. StudFiles. Available from: <https://studfile.net/preview/5599759/page:23/>. Харьков – 2000
10. Орлова С.Н., Герман Н.В., Владимцева И.В., Колотова О.В., Бойкова И.С. Выделение и изучение основных свойств липидоокисляющих микроорганизмов - Современные проблемы науки и образования (сетевое издание) Available from: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=13111>.
11. Zvyagintsev D.G. Tuproq mikrobiologiyasi va biokimyosining usullari. Moskva, 1991
12. [Manojit Debnath](#), [Narayan C. Mandal](#), and [Samit Ray](#); “Effect of Fungicides and Insecticides on Growth and Enzyme Activity of Four Cyanobacteria” Published online 2011 Aug doi:[10.1007/s12088-011-0212-4](https://doi.org/10.1007/s12088-011-0212-4) //PMCID:PMC3386444
13. [Chi-Chu Lo](#) “Effect of pesticides on soil microbial community” [Journal of Environmental Science and Health](#); Published online: 27 May 2010 //doi.org/10.1080/03601231003799804
14. Aliyev Z.Z., Abdullayev A.K., Shakirov.Z.S., Safarov H.Sh., Boboqulov M.Sh., Imomova M.X. Azotobacter va Azospirillum, Bacillus avlodlariga mansub shtammlaridan ajraladigan fitogormonlar miqdori// “генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари” республика илмий анжуманининг тезислар тўплами -2023,18 май 186-188 б.