

## TABIY DALA SHAROITIDA YETISHTIRILAYOTGAN VA BOQUVDAGI YIRIK SHOXLI QORAMOLLAR OVQAT HAZM QILISH TIZIMI MIKROBIOMI

B.I. Turaeva  
Q.D. Davranov

**Abstrakt** *Ushbu tadqiqotda tabiiy dala sharoitida oziqlanadigan va boquvdagi ozuqa qiymati yuqori bo'lgan ozuqa bilan yetishtirilayotgan yirik shoxli qoramollarning ovqat hazm qilish tizimi (og'iz bo'shlig'i-so'lagi, katta qorni va qat qorni) mikrobiomi tadqiq qilingan. Toza holatdagi mikroorganizm izolyatlari ajratib olingan, MALDI-TOF MS usullari yordamida identifikasiya qilingan va farqlanishi baholangan.*

**Kalit so'zlar:** *Yirik shoxli qoramol, ovqat hazm qilish tizimi, mikrobiom, oziqlanish sharoiti, bakteriya, morfologiya, Weissella confusa, Escherichia coli, Candida krusei, Bacillus cereus.*

Dunyoning turli mamlakatlarida mikroorganizmlarning sellulolitik fermentlaridan muhim texnik va xo'jalik maqsadlarida foydalanishga bo'lgan qiziqishning ortib borishi ushbu fermentlarning faol produsentlarini tanlashning qanchalik muhim ekanligini ko'rsatadi. Xususan turli avlod mansub bakteriyalar amilaza, proteaza, sellulaza, glyukoizomeraza pullulanaza fermentlarini ishlab chiqarish buyicha tijorat manbai xisoblanadi. Tsellyulolitik bakteriyalar tsellyulozani glyukozaga gidrolizlaydigan tsellyuloza fermentlarini sintez qiladi. Tsellyuloza ishlab chiqarilishi hujayralardagi tsellyulozaga javoban yoki to'g'ridan-to'g'ri bog'liqlik tufayli sodir bo'ladi. Tsellyuloza - bu sinergetik tizimni hosil qiluvchi ferment kompleksi bo'lib, u asta-sekin biomassada energiya manbaiga aylanadi [1]. Dunyo olimlarining fikriga ko'ra, ko'plab mikroorganizmlar tsellyuloza biosinteziga ega. Tsellyulolitik bakteriyalarning keng qo'llanilishining sababi shundaki, ular juda ko'p, tez va barqaror fermentlar ishlab chiqaradi, yuqori biomassa ishlab chiqaradi va tez inkubatsiya kabi afzalliklarga ega [2]. Shuning uchun, hozirgi kunga qadar tsellyulolitik bakteriyalarni ajratish va o'rganish bo'yicha tadqiqotlar olib borilgan. Tsellyuloza -bog'lanishlar bilan bog'langan glyukoza birliklaridan iborat va noyob xususiyatlarga ega. Tsellyulozaning eng keng tarqalgan tabiiy manbalariga qog'oz, bug'doy kepagi, daraxt yog'ochi, somon va boshqalar kiradi [3]. Ba'zi kavsh qaytaruvchi hayvonlarning ovqat hazm qilish tizimida tsellyuloza ma'lum tsellyulolitik bakteriyalar rivojlanishi bilan hazm qilinadi [4]. Shuning uchun kavsh qaytaruvchi hayvonlarning ovqat hazm qilish yo'llari yoki me'da shiralari tsellyulolitik bakteriyalarni ajratish uchun eng keng tarqalgan tanlovdur. Karboksimetilsellyuloza (KMS) tsellyulozaning keng tarqalgan tijorat manbaidir [5]. Ushbu tadqiqot torf ekotizimlaridan ajratilgan tsellyuloza bakteriyalarining potentsial shtammini aniqlashga qaratilgan. Qo'llanilgan usul eksperimental bo'lib, ketma-ket bosqichlardan iborat: tsellyuloza bakteriyalarini ajratish va skrining qilish, tsellyulozaning miqdoriy tahlili. Bacillus, Lactobacillus va

*Corynebacterium* shtammlari 2,82 mm, 2,65 mm va 2,47 mm yuqori sellulolitik faollikni ko'rsatishi aniqlangan [6]. Erkin ferment sintez qiluvchi bakteriyalarning sellulolitik faolligi ma'lum bir lignosellyuloza substratida fermentlar ta'sirida tsellyulozaning shakarga gidroliziga bog'liq. Umuman olganda, bu kamida uchta erkin ferment sinfi o'rtasida kooperativ yoki sinergetik ta'sir mavjudligi bilan izohlanadi. Yirik shoxli qoramollarning ovqat hazm qilish tizimining mikrob ekosistemi uchuvchan yog' kislotalariga, lignotsellyulozali ozuqalarning biokonversiyasida juda muhim rol o'ynaydi [7]. Ularga beriladigan ozuqa sifatsiz va ular tarkibida foydali hamda energetik qiymati yuqori bo'lgan moddalar mavjud bo'lmasa mikrob ekosistemasi uchun juda muhimdir [8]. Qattiq dag'al ozuqalarni parchalash va yuqori energetik qiymatga ega ozuqa moddalar bilan ta'minlanishi ovqat hazm qilish tizimi mikrob ekosistemasi samaradorligiga bog'liq. Hayvon ovqat hazm qilish tizimi mikrobiomidagi mikroorganizmlarining asosiy guruhlarini bakteriyalar va mikromitsetlardir. Ular hayvonlarning qorin bo'shlig'idagi dag'al ozuqalarni hazm qilish uchun javobgardirlar. Ular biokonversiya uchun turli funksiyalarni bajaradilar va hayvonlarning umumiy o'sishini yaxshilaydi [9]. Hayvon ovqat hazm qilish tizimidan ajratib olingan ayrim foydali bakteriyalar ularning ovqat hazm qilishini yaxshilash uchun ozuqa qo'shimchalari sifatida ham tavsiya etiladi. Yirik shoxli qoramol ovqat hazm qilish tizimi mikroblari ular uchun muhim, energiya manbai sifatida o'simlik ozuqalaridan samarali foydalanishga qodir [10]. Ovqat hazm qilish tizimi foydali mikroflorasi qorin bo'shlig'ida turli ta'sirlar ostida yashovchanligini saqlab qoladi. Ularning yashovchanligi hayvon organizmi uchun zararli bo'lgan har qanday ifloslantiruvchi moddalarni yo'qotishga olib keladi [11]. Hayvonlarning ovqat hazm qilish tizimida aniqlangan foydali mikroorganizm uning o'sishi yoki mahsuldorligini oshirish uchun ozuqa qo'shimchasi sifatida ham tavsiya etilgan [2]. YShQ ovqat hazm qilish tizimi murakkab mikroblar jamoasi va son-sanoqsiz mikroblardan tashkil topgan alohida organ sifatida tan olinadi [13], ular ovqat hazm qilish va metabolizm jarayonlarda hal qiluvchi rol o'ynaydi. Tadqiqotlarda ozuqa samaradorligi, azotdan foydalanish va bir qator metabolizm jarayonlari kavsh qaytaruvchi hayvonlarda mikroorganizmlar ta'sirida amalga oshishi aniqlangan [14]. Katta qorin yoki qat qorinning epiteliy hujayralari ozuqa moddalarining va vitaminlarning so'rilishida muhim rol o'ynaydi. Bundan tashqari, turli xil mikrob populyatsiyalari katta qorin epiteliyida kolonizatsiyalanishi mumkin [15]. Ushbu tadqiqotning maqsadi yirik shoxli qoramollarning mikrobiomini o'rganishdan iborat.

### **Tadqiqot usullari**

Jizzax viloyatidagi yoylovlarda tabiiy holatda dalada oziqlanuvchi va boquvdagi ozuqa qiymati yuqori bo'lgan ozuqa bilan yetishtirilayotgan qoramollarning ovqat hazm qilish tizimidan namunalar olindi. Namunalar laboratoriyada tayyorlangan 0,9% NaCl eritmasiga va oldindan tayyorlangan suyuq ozuqa muhitiga solindi. Tadqiqotning keyingi bosqichida GP (Hi Media, Indiya) suyuq ozuqa muhitiga ekildi. Aerob bakteriyalarning sof kulturalarini ajratib olishda qoramollarning og'iz bo'shlig'idan olingan surtmalar orqali oldindan tayyorlangan suyuq ozuqa muhitiga ekildi va 220 aylanish tezligidagi tebratkichga qo'yildi. Tadqiqotning

keyingi bosqichida suyuq ozuqa muhitidan tomchilar olindi agarli ozuqa muhitiga inkubatsiya qilish orqali bakteriyalarning toza izolyatlarini ajratib olish uchun tadqiqotlar olib borildi. Sof izolyatlar olish uchun oldindan tayyorlangan sterill probirkalardagi steril 0,9% li fiziologik eritmaga solish orqali suspenziya tayyorlandi. Tayyorlangan suyultirilgan suspenziyadan 0,01 ml olib, Petri idishidagi agarli ozuqa muhiti yuzasiga halqa shaklida quyildi va shpatel bilan ehtiyotkorona ekildi. Ekilgandan keyin Petri chashkasi teskari o'girildi va 37<sup>0</sup>C haroratli termostatda 18-24 soat davomida inkubatsiya qilindi. Chashka yuzasida rivojlangan mikroorganizm koloniyalaridan ularning toza izolyatlari qayta ekish orqali ajratib olindi.

### **Olingan natijalar va ularning muhokamasi**

Ikki xil sharoit muhitida yetishtirilayotgan yirik shoxli qoramollarning qorin va og'iz bo'shlig'idan bakteriya izolyatlari ajratib olindi. Jizzax viloyatida yetishtirilayotgan qoramollarning og'iz bo'shlig'idan namunalar olindi. Namunalar laboratoriya sharoitida oldindan tayyorlangan suyuq ozuqa muhitiga va 0,9% fizik eritmalarga olindi. Ular 2 soatlik interval bilan steril agarli ozuqa muhitida ekildi. Mikrobiomni mikrobiologik tadqiq qilish uchun har bir hududdan 10 bosh qoramolning og'iz bo'shlig'idan (so'lak) namunalar olindi.



Ozuqaviy qiymati yuqori bo'lgan ozuqa bilan oziqlantirilgan YShQ namuna olish



Tabiiy dala sharoitida oziqlantiriladigan YShQ namunalar olish

Mikroorganizmlarning sof izolyatlarini ajratish uchun mikrobiologiyada umum qabul qilingan klassik usullar qo'llanildi. Tadqiqotlar davomida ajratilgan mikroorganizmlarning morfologik xususiyatlari o'rganildi. Toza holatdagi bakteriya izolyatlari MRS va GPA (go'sht peptonli agar) muhitida (Hi Media, Hindiston) 35-37<sup>0</sup>C da inkubatsiya qilindi. 3 kun davomida inkubatsiya tozalangan bakteriya izolyatlarining mikroskopik tuzilishi 400 marta kattalashtirilgan NLCD 307B rusumli yorug'lik mikroskoplari yordamida o'rganildi. Yirik shoxli qoramollarning og'iz bo'shlig'i (so'lagi) dan ajratilgan 1x2 izolyati morfologik jihatdan tadqiq qilinganda, tayoqcha shaklida, lekin ko'rinishi oval, juda kichik, uzunligi 0,4 mkm va eni 0,1 mkm bo'lgan tayoqchasimon bakteriya ekanligi aniqlandi. 1x6, 2x6, 3x5, 4x5, 5x4, 6x5 va 7x3 bakteriya izolyatlari gram-musbat ekanligi koloniyalarida sezilarli farqlar kuzatilmaganligi aniqlandi va tayoqcha shaklidagi bakteriya sifatida tasniflandi. Izolyatlar rangsiz va silliq

ko'rinishdagi asosan eni 0,3 mkm va uzunligi 1,5 dan 2,0 mkm bo'lgan tayoqchalar hosil qildi. Uni aerob yoki fakultativ anaerob deb tasniflash mumkin. Shuningdek 7x6 bakteriya izolyati silliq, qaymoq rangli koloniyalarni hosil qiluvchi bir oz yirik bo'lgan gram-musbat tayoqcha shaklidagi bakteriya sifatida aniqlandi. 6x3 va 7x3 izolyatlari morfologik jihatdan 0,2-0,4 dan 4,0-4,3 mkm gacha bo'lgan spora hosil qiluvchi bakteriya izolyatlari sifatida tavsiflandi. **1x6 izolyat** gram-musbat tayoqcha shaklidagi bakteriya sifatida aniqlandi, rangsiz va tekis ko'rinishdagi, o'lchami juda kichik, eni 0,25 mkm va uzunligi 0,3 dan 0,5 mkm gacha bo'lgan tayoqchasimon bakteriya ekanligi belgilandi. Mikroorganizm izolyatlari Matrisa yordamida lazer desorbsiyasi/ionizatsiyasi, MALDI - tahlil qilinayotgan moddani o'z ichiga olgan matrisaga lazer nurlanish impulslarining ta'siridan kelib chiqadigan "yumshoq" ionlanishning desorbsion usuli asosida ham identifikatsiya qilindi. Ajratib olingan bakteriya izolyatlari MALDI-TOF MS yordamida identifikatsiya qilinganda morfologik belgilari jihatdan mosligini ko'rsatdi (I-jadval).

### I-jadval

Turlicha oziqlantirilayotgan qoramollarning ovqat hazm qilish tizimidan ajratilgan bakteriya izolatlarini MALDI-TOF MS yordamida identifikatsiya qilish

	Em bilan oziqlangan YShQ	Yaylovlarda yetishtirilayotgan YShQ
	<b>1x6- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>1x2 <i>Escherichia coli</i></b>
	<b>2x6- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>2x2 <i>Escherichia coli</i></b>
	<b>3x5- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>3x2 <i>Escherichia coli</i></b>
	<b>4x5- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>4x2 <i>Escherichia coli</i></b>
	<b>5x4- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>5x5- <i>Bacillus pumilus</i></b>
	<b>6x5- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>5,1x5- <i>Bacillus pumilus</i></b>
	<b>7x3- <i>Weissella confusa</i></b>	<b>7x3-<i>Bacillus cereus</i></b>
	<b>7x2- <i>Lactococcus lactis</i></b>	<b>6x 3-<i>Bacillus cereus</i></b>
	<b>7x6- <i>Bacillus subtilis</i></b>	<b>6,1x4-<i>Candida krusei</i></b>
0	<b>5x5- <i>Bacillus subtilis</i></b>	<b>4,1x4-<i>Kocuria rosea</i></b>

Tadqiqotlarimizda tabiiy holatda yaylov sharoitida yetishtirilayotgan qoramollarda asosan shartli patogen 1 ta *Candida krusei*, *Escherichia coli* bakteriyasining 4 ta shtammi, 1 ta *Bacillus pumilus* 2 ta va *Bacillus cereus* 2 ta bakteriya shtamlari aniqlandi. tabiiy holatda yetishtirilayotgan yirik shohli qoramollarning og'iz bo'shlig'i (so'lak) da shartli patogen bakteriya shtamlari dominant tur sifatida aniqlandi. Ozuqaviy qiymati yuqori ozuqa bilan yetishtirilayotgan yirik shoxli qoramollarning ovqat hazm qilish tizimi, og'iz bo'shlig'i ya'ni so'lagidan ajratib olingan izolyatlar 7 ta *Weissella confusa* sut achituvchi bakteriya shtammi va 1 ta *Bacillus subtilis* bakteriya shtammini tashkil qildi.

**Xulosa:** ikki xil sharoitda yetishtirilayotgan yirik shoxli qoramollarning ovqat hazm qilish tizimi mikrobiomi tadqiq qilinganda, yirik shoxli qoramollarni yetishtirishda ozuqaning sifatiga bog'liq holda mikrobiom farqlanishi kuzatildi. Tabiiy sharoitda yetishtirilayotgan

qoramol ozuqasining ozuqaviy qiymati yuqori bo'lmashligi, tabiiy holatda iqlimning o'zgarishi natijasida tabiiy floraning hilma-xilligi yo'qolib ketayotganligi, ular ozuqasining sifatsizligi bilan ulardagi foydali mikrobiom yo'qolib ketayotganligini izohlash mumkin. Ozuqaviy qiymati yuqori bo'lgan ozuqa bilan yetishtirilayotgan yirik shohli qoramollarda ozuqa sifatining yuqoriligi ularda foydali sut achituvchi bakteriyalar hamda sellyulozani parchalovchi bakteriyalarni dominant tur sifatida aniqlanganligini ko'rsatdi.

#### FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:

1. Santos-Marcos, J.A.; Mora-Ortiz, M.; Tena-Sempere, M.; Lopez-Miranda, J.; Camargo, A. Interaction between Gut Microbiota and Sex Hormones and Their Relation to Sexual Dimorphism in Metabolic Diseases. *Biol. Sex Differ.*-2023,14, 4.
2. Liu, M.; Zhang, J.; Zhou, Y.; Xiong, S.; Zhou, M.; Wu, L.; Liu, Q.; Chen, Z.; Jiang, H.; Yang, J.; et al. Gut Microbiota Affects the Estrus Return of Sows by Regulating the Metabolism of Sex Steroid Hormones. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* -2023, 14, 155.
3. Guo C.Y., Ji S.K., Yan H., Wang Y.J. Liu J.J., Cao Z.J., Yang H.J., Zhang W.J., Li S.L. Dynamic Change of the Gastrointestinal Bacterial Ecology in Cows from Birth to Adulthood // *Microbiology.* -2020. -№9. 1119.
4. Ars'had M. A., Hassan F., Rehman M.S., Huws S.A., Cheng Y., Din A.U. Gut Microbiome Colonization and Development in Neonatal Ruminants: Strategies, Prospects, and Opportunities // *Anim. Nutr.*-2021. -№7. –R.883–895.
5. Wegener Parfrey, L.; Walters, W.A.; Knight, R. Microbial Eukaryotes in the Human Microbiome: Ecology, Evolution, and Future Directions. *Front. Microbiol.* 2011, 2.
6. Mao S., Zhang M., Liu J., Zhu W. Characterising the Bacterial Microbiota across the Gastrointestinal Tracts of Dairy Cattle: Members'hip and Potential Function. *Sci. Rep.* 2015. -№.5. –R.16116.
7. Wang, J., Fan H., Han Y., Zhao J., Zhou Z. Characterization of the Microbial Communities along the Gastrointestinal Tract of S'heep by 454 Pyrosequencing Analysis. *Asian-Australas J. Anim. Sci.* -2017. -№.30. –R.100–110.
8. Yeisler M.C., Lee M. R. F., Tarlton J.F., Martin G.B., Beddington J., Dungait J. A. J. Greathead H., Liu J., Mathew S., Miller H. et al. Agriculture: Steps to Sustainable Livestock // *Nature.* -2014. -№.507. –R.32–34.
9. Nkrumah J.D., Okine E.K., Mathison G.W., Schmid K., Li C., Basarab J.A., Price M.A., Wang Z., Moore S.S. Relations'hips of Feedlot Feed Efficiency, Performance, and Feeding Behavior with Metabolic Rate, Methane Production, and Energy Partitioning in Beef Cattle // *J. Anim. Sci.*-2006. -№84. –R.145–153.
10. Kumar S., Dagar S.S., Puniya A.K., Upadhyay R.C. Changes in Methane Emission, Rumen Fermentation in Response to Diet and Microbial Interactions // *Res. Vet. Sci.*-2013. –P. 263–268.

11. Curtis H., Blaser M.J., Dirk G., Kota K.C., Rob K., Liu B., Wang L., Sahar A., White J.R., Badger J.H. Structure Function and Diversity of the Healthy Human Microbiome. *Nature*. -2012. -№ 486. –r. 207–214.
12. Yelolimy A., Alharthi A., Zeineldin M., Parys C., Loor J.J. Residual Feed Intake Divergence during the Prewaning Period Is Associated with Unique Hindgut Microbiome and Metabolome Profiles in Neonatal Holstein Heifer Calves. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*-2020. –p.11-13.
13. Xu, H.; Lu, Y.; Li, D.; Yan, C.; Jiang, Y.; Hu, Z.; Zhang, Z.; Du, R.; Zhao, X.; Zhang, Y.; et al. Probiotic Mediated Intestinal Microbiota and Improved Performance, Egg Quality and Ovarian Immune Function of Laying Hens at Different Laying Stage. *Front. Microbiol.*-2023,14, 1041072.
14. Deng, Y.; Jiang, S.; Duan, H.; S’hao, H.; Duan, Y. Bacteriophages and Their Potential for Treatment of Metabolic Diseases. *J. Diabetes* -2024. -№.16. e70024.
15. B.I.Turayeva, G.J.Kutlieva, X.F.Kamolova. O’zbekiston sharoitida tselyulolitik faollikka ega bakteriyalarni aniqlash va bacillus turiga mansub bakteriyalarning tsellyuloza faolligini aniqlash // «Yosh olimlar axborotnomasi» ilmi jurnali, № 4 (4) 2023. 62-69 b.
16. Diaz, J., Reese A.T. Possibilities and Limits for Using the Gut Microbiome to Improve Captive Animal Health. *Anim. Microbiome*. -2021. -№3. 89