

Улсын бүртгэлийн
дугаар

Нууцын зэрэглэл: Б

Аравтын бүрэн
ангилалын код

**ШИНЖЛЭХ УХААНЫ АКАДЕМИ
БИОЛОГИЙН ХҮРЭЭЛЭН**

**УРГАМЛААС БИОЛОГИЙН ИДЭВХТ БОДИС
НИЙЛЭГЖҮҮЛЭГЧ ЭНДОФИТ БИЧИЛ
БИЕТНИЙ ӨСГӨВӨР ЯЛГАЖ ӨСГӨВРИЙН
САН БҮРДҮҮЛЭХ, ТЭДГЭЭРТ СУУРИЛСАН
БҮТЭЭГДЭХҮҮНИЙ ТУРШИЛТ СУДАЛГАА**

Шинжлэх ухаан, технологийн захиалгат төслийн тайлан
2021-2022

Төслийн удирдагч:

Ж. Энх-Амгалан – доктор (Ph.D)
Биологийн хүрээлэнгийн
лабораторийн эрхлэгч, ЭШТА

Захиалагч байгууллага:

Байгаль орчин аялал жуулчлалын яам
Боловсрол, соёл, шинжлэх ухаан,
спортын яам

Улаанбаатар хот
2023

Улсын бүртгэлийн
дугаар

Нууцын зэрэглэл: Б

Аравтын бүрэн
ангилалын код

Төсөл хэрэгжүүлэх
гэрээний дугаар: ШуУз_2020/01

ШИНЖЛЭХ УХААНЫ АКАДЕМИ БИОЛОГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

УРГАМЛААС БИОЛОГИЙН ИДЭВХТ БОДИС НИЙЛЭГЖҮҮЛЭГЧ ЭНДОФИТ БИЧИЛ БИЕТНИЙ ӨСГӨВӨР ЯЛГАЖ ӨСГӨВРИЙН САН БҮРДҮҮЛЭХ, ТЭДГЭЭРТ СУУРИЛСАН БҮТЭЭГДЭХҮҮНИЙ ТУРШИЛТ СУДАЛГАА

Шинжлэх ухаан, технологийн захиалгат төслийн тайлан
2021-2022

Төслийн удирдагч:

Ж. Энх-Амгалан – доктор (Ph.D)
Биологийн хүрээлэнгийн
лабораторийн эрхлэгч, ЭШТА

Санхүүжүүлэгч байгууллага:

Шинжлэх ухаан технологийн сан

Захиалагч байгууллага:

Байгаль орчин аялал жуулчлалын яам
Боловсрол, соёл, шинжлэх ухаан,
спортын яам

Тайлан өмчлөгч байгууллага:

Биологийн хүрээлэн
Улаанбаатар-13330,
Энхтайваны өргөн чөлөө 54б
Утас: 451781
e-mail: enkhamgalanj@mas.ac.mn

Улаанбаатар хот

2023



БАЙГАЛЬ ОРЧИН,
АЯЛАЛ ЖУУЛЧЛАЛЫН ЯАМ



БОЛОВСРОЛ,
ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ



МОНГОЛ УЛСЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ АКАДЕМИ
БИОЛОГИЙН ХҮРЭЭЛЭН

УРГАМЛААС БИОЛОГИЙН ИДЭВХТ БОДИС НИЙЛЭГЖҮҮЛЭГЧ ЭНДОФИТ БИЧИЛ БИЕТНИЙ ӨСГӨВӨР ЯЛГАЖ ӨСГӨВРИЙН САН БҮРДҮҮЛЭХ, ТЭДГЭЭРТ СУУРИЛСАН БҮТЭЭГДЭХҮҮНИЙ ТУРШИЛТ СУДАЛГАА

Шинжлэх ухаан, технологийн захиалгат төслийн тайлан

2021-2022

Биологийн хүрээлэнгийн
эрдмийн зөвлөлийн хурлаар
2023 оны 06 сарын 02-нд хэлэлцүүлэв.

Улаанбаатар хот
2023

ГҮЙЦЭТГЭГЧДИЙН НЭРСИЙН ЖАГСААЛТ

Байгууллага: ШУА, Биологийн хүрээлэн, Микробиологийн лаборатори

| Д/д | Овог нэр | Гарын үсэг | Эрдмийн зэрэг, цол | Албан тушаал, эрдэм шинжилгээний ажилтны зэрэг дэв |
|-----|-------------------------|------------|--------------------|--|
| 1 | Жигжиддорж Энх-Амгалан | | Доктор (Ph.D) | Лабораторийн эрхлэгч, ЭШТА |
| 2 | Цэрэннадмид Рэнцэнханд | | Доктор (Ph.D) | ЭШТА |
| 3 | Нурамхаан Маржангүл | | Доктор (Ph.D) | ЭШДА |
| 4 | Төрбат Адъяадолгор | | Доктор (Ph.D) | ЭШДА |
| 5 | Майдаржав Амарбаясгалан | | M.Sc | ЭШДА |
| 6 | Одонжавхлан Чагсалдулам | | M.Sc | ЭШДаА |
| 7 | Бямбасүрэн Бумцэнд | | B.Sc | ЭШДаА |
| 8 | Нямгэрэл Дарьцогзол | | B.Sc | ЭШДаА |
| 9 | Эрдэнэтөгс Энхтөгс | | B.Sc | ЭШДаА |
| 10 | Гэндарам Одонтуюа | | ШУ доктор (Sc.D) | Гэрээт ажилтан |
| 11 | Ядамсүрэн Гэрэлчулуун | | Доктор (Ph.D) | Гэрээт ажилтан |

ТОВЧИЛСОН ҮГ, НЭР ТОМЪЁОНЫ ТАЙЛБАР

| | |
|-------|---|
| БОЯБ | Биологийн олон янз байдал |
| БОЯБК | Биологийн олон янз байдлын тухай конвенци |
| БОАЖЯ | Байгаль орчин, аялал жуулчлалын яам |
| БШУЯ | Боловсрол, шинжлэх ухааны яам |
| СММ | Corn Meal Agar тэжээлийн орчин |
| ГҮР | Glucose Yeast Peptone тэжээлийн орчин |
| ИЦХ | Индол цууны хүчил |
| LCA | Low Carbon Agar тэжээлийн орчин |
| PDA | Potato Dextrose Agar тэжээлийн орчин |
| PDB | Potato Dextrose Broth тэжээлийн орчин |
| ҮМ | Yeast malt agar тэжээлийн орчин |
| LB | Luaria-Bertani Broth |
| БНХАУ | Бүгд Найрамдах Хятад Ард Улс |
| МУИС | Монгол Улсын Их Сургууль |
| ТХУ | Гурван хлорт цууны хүчил |
| ШУА | Шинжлэх Ухааны Академи |
| ШУС | Шинжлэх Ухааны Сургууль |
| ШУТС | Шинжлэх ухаан, технологийн сан |

ТАЛАРХАЛ

- 🌱 Энэхүү шинжлэх ухаан технологийн төсөлт ажлыг захиалагч БОАЖЯам, дэмжиж санхүүжүүлсэн БШУЯам, ШУТСан
- 🌱 Төсөлт ажлыг хэрэгжүүлэхэд туслалцаа үзүүлсэн Биологийн хүрээлэнгийн захиргаа, хамт олон
- 🌱 Бодисын шинжилгээг орчин үеийн дэвшилтэт Молекул нетворкинг аргаар хийж гүйцэтгэсэн БНХАУ-ын Анагаахын шинжлэх ухааны академийн Анагаахын биотехнологийн хүрээлэнгийн доктор, профессор Ченхан Сан
- 🌱 Ургамлын дээж материалын ангилалзүйн тодорхойлолтыг гүйцэтгэсэн Боловсролын Их Сургуулийн Биологийн тэнхимийн багш, доктор В.Гүндэгмаа
- 🌱 Ургамлын дээж материалыг хайж олоход тусалж, газарчилсан Говь-Алтай аймгийн Чандмань сумын иргэн А.Галбадрах; Агро гарден сервис ХХК-ийн захирал, агрономич Ж.Жавхлантөгс
- 🌱 Тав тухтай, аюулгүй үйлчилсэн жолооч Л.Лхагвадорж
- 🌱 Тусалж дэмжсэн бүх байгууллга, судлаач нарт тус тус гүн талархал илэрхийлье!

РЕФЕРАТ

Энэхүү төслийн үр дүнд Монгол орны нэн ховор, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй 15 зүйл эмийн ургамлаас эндофит бактери, актиномицет, дрожж, мөөгөнцрийн 358 цэвэр өсгөвөр ялган авч, *ex-situ* хадгалж, 103 өсгөврийг генийн түвшинд тодорхойлж, олон улсын генбанкны нэгдсэн системийн санд бүртгүүлэв.

Төслийн хүрээнд ялгасан эндофит бичил биетний 358 цэвэр өсгөврийн сан буюу биет материалын сан хөмрөг, тэдгээрийн ангилалзүй, биологийн идэвхийн мэдээллийн санг бүрдүүлж, мэдээллийг дэлхийн “Бичил биетний глобал каталог”-д байршуулсан.

Микробын эсрэг идэвхтэй бичил биетний 108 өсгөвөр, ургамлын өсөлтийн гормон болох индол цууны хүчил (ИЦХ) нийлэгжүүлэгч 118, фосфат уусгагч 121, цайр уусгах чадвартай 100 өсгөврийг олж тогтоож, цаашид эдгээр ашигт шинж чанарт суурилсан хэрэглээний судалгааны суурь материал бэлдсэн.

Нөмрөгт банздооноос ялгасан, микробын эсрэг өндөр идэвхтэй мөөгөнцрийн *Fusarium* P20-S1-1 өсгөвөр нь бактери, мөөгөнцрийн эсрэг үйлчилгээтэй, гербицид, пестицид шинж чанартай, зарим хавдрын шугаман эсийг дарангуйлах идэвхтэй зэрэг олон тооны шинэ бодис нийлэгжүүлж байгааг олж тогтоосон.

Судалгаагаар олж илрүүлсэн ургамлын өсөлтийн гормон нийлэгжүүлэх, уусдаггүй эрдсийг уусгах чадвартай бичил биетний өсгөврүүдийг ашиглан бэлдмэл хийж модлог ургамлын үрэн дээр туршсан үр дүнгээр эдгээр бэлдмэлүүд шилмүүст модны үрийн сёололтын хувийг нэмэгдүүлж, хугацааг богиносгох, анхны шилмүүс ба мөчрийн эх үүсвэрийг нэмэгдүүлэх, навчит модны өндөр, навчны тоог нэмэгдүүлэх үйлчилгээ үзүүлж буйг тогтоосон.

Уг тайлан 98 хуудастай, 13 хүснэгт, 45 зураг, диаграмм 18, 1 хавсралтаас бүрдсэн ба эшлэлд 35 бүтээл ашиглав.

Түлхүүр үг: эндофит, бактери, актиномицет, дрожж, мөөгөнцөр, филогенетик, индол цууны хүчил, гиббериллин, микробын эсрэг идэвх, Молекул нетворк

ГАРЧИГ

| | |
|--|----|
| 1.1. Төслийг гүйцэтгэх үндэслэл, шаардлага | 7 |
| 1.2. Төслийн зорилго, зорилт..... | 8 |
| 1.3. Урьдчилсан судалгаа хийгдэж судлагдсан байдал | 9 |
| 2.1. Судалгааны материал..... | 11 |
| 2.2. Эндофит бичил биетэн ялгах арга зүй | 17 |
| 2.3. Эндофит бичил биетнийг тодорхойлох арга зүй | 18 |
| 2.3.1. Мөөгөнцрийн төрлийн хамаарлыг морфологи бүтцээр тодорхойлох | 18 |
| 2.3.2. Бичил биетний рРНХ генийн (мөөгөнцөр, дрожжийг 28S рРНХ генийн D1/D2 домейн, бактери, актиномицетийг 16S рРНХ генийн) нуклеотидын дарааллыг тогтоож, түүнд тулгуурлан төрлийн хамаарлыг тодорхойлох | 19 |
| 2.4. Микробын эсрэг идэвх тодорхойлох арга зүй | 20 |
| 2.4.1. Агар блокийн арга..... | 20 |
| 2.4.2. Диск диффузийн арга..... | 20 |
| 2.5. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар | 21 |
| 2.5.1. Индол цууны хүчил (ИЦХ) үүсгэлт, ИЦХ-ын хэмжээ тодорхойлох..... | 21 |
| 2.5.2. Гиббериллиний хүчил (ГХ) тодорхойлох | 21 |
| 2.5.3. Фосфат ба цайр уусгах чадвар | 22 |
| 2.6. Мөөгөнцрийн өсгөврийн ханд бэлтгэх | 22 |
| 2.6.1. Мөөгөнцрийн бодис нийлэгжлийн хугацаа тодорхойлох | 23 |
| 2.6.2. Мөөгөнцрийн ханднаас бодис ялгах | 23 |
| 3.1. Монгол орны устаж буй, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй эмийн ургамлуудаас эндофит бактери, мөөгөнцрийн өсгөвөр ялган авч, тэдгээрийг молекул маркер ашиглан тодорхойлж, ex-situ хамгаалах; | 24 |
| 3.1.1. Эндофит бичил биетний цэвэр өсгөвөр ялгах | 24 |
| 3.1.2. Бичил биетний өсгөврүүдийг молекул маркер ашиглан тодорхойлж, ex-situ хамгаалах | 30 |
| 3.2. Эндофит бичил биетний өсгөврийн болон мэдээллийн санг бүрдүүлж, мэдээллийг дэлхийн бичил биетний глобал каталогт байршуулах; | 40 |
| 3.3. Эндофит бичил биетний микробын эсрэг идэвх, ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар зэрэг биологийн идэвхийг нарийвчлан судлах; | 42 |
| 3.3.1. Микробын эсрэг идэвх..... | 42 |
| 3.3.2. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар | 48 |
| 3.3.2.1. Индол цууны хүчил нийлэгжүүлэх чадварыг туршсан үр дүн..... | 48 |
| 3.4. Шинэ бодис эсвэл эзэн ургамалтайгаа адил эмт бодис нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоож, тэдгээрийг ашигласан хэрэглээнд чиглэсэн туршилт судалгаа хийх; | 50 |
| 3.4.1. Шинэ бодис нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоох | 50 |
| 3.4.1.1. Микробын эсрэг идэвхтэй өсгөврүүдээс ханд бэлдэж, хандны микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлох..... | 50 |

| | |
|---|----|
| 3.4.1.2. Мөөгөнцрийн ханд бэлтгэх | 50 |
| 3.4.1.3. Хандны микробын эсрэг идэвхийг агар диффузийн аргаар тодорхойлох..... | 51 |
| 3.4.1.4. Хандны микробын эсрэг идэвхийг тоон аргаар тодорхойлох | 52 |
| 3.4.1.5. Идэвхтэй хандыг фракцалж, бодис ялгаж, бодисын идэвх тодорхойлох..... | 54 |
| 3.4.1.6. Мөөгөнцрийн бодис нийлэгжлийн хугацаа тодорхойлох | 54 |
| 3.4.1.7. Мөөгөнцрийн ханднаас бодис ялгах | 55 |
| 3.4.1.8. Ялгасан бодисын микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлох..... | 57 |
| 3.4.1.9. Идэвхтэй бодисыг тодорхойлох | 59 |
| 3.4.2. Ургамалтай ижил нэгдэл нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоох..... | 62 |
| 3.4.3. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвартай эндофит бичил биетнийг ашигласан хэрэглээнд чиглэсэн туршилт судалгаа | 66 |
| 3.4.3.1 Мөөгөнцөр болон дрожжийн хандны улаан буудайн (<i>Triticum aestivum</i> L.) үрийн соёололтонд үзүүлэх нөлөө..... | 66 |
| 3.4.3.2. Эндофит бактерийн өсгөврийн улаан буудайн (<i>Triticum aestivum</i> L.) үрийн соёололтонд үзүүлэх нөлөө..... | 69 |
| 3.4.3.3. Модлог ургамлын үрийн соёололт | 72 |
| ДҮГНЭЛТ | 84 |

1. ОРШИЛ

1.1. Төслийг гүйцэтгэх үндэслэл, шаардлага

Монгол улс Биологийн олон янз байдлын тухай конвенцид 1993 онд албан ёсоор нэгдэн орсноор БОЯБ-ыг хамгаалах, нөөцийг зохистой ашиглах, генетик нөөцийн ашиглалтаас олох ашгийг шударга, тэгш, хүртээмжтэй хуваарилах үндсэн гурван зорилгод чиглэсэн үйл ажиллагааг хэрэгжүүлэх үүргийг олон улсын өмнө хүлээсэн билээ. Мөн 2014 онд БОЯБК-ын дагалдах протокол болох Генетик нөөц, түүнийг ашигласнаас үүдэх үр шим, ашгийг тэгш шударгаар хүртээх тухай Нагояагийн протоколын гишүүн болсон. Эдгээр олон улсын конвенци, протоколоор хүлээсэн үүргээ биелүүлэхэд чиглэгдсэн “БОЯБ-ыг хамгаалж, экосистемийн үйлчилгээний тогтвортой байдлыг хадгална”, “Нэн ховор, ховор амьтан, ургамал болон бичил биетний омог, эд, эсийн өсгөврийн сан байгуулна” зэрэг заалтууд Тогтвортой хөгжлийн үзэл баримтлал-2030, Үндэсний аюулгүй байдлын үзэл баримтлал, Ногоон хөгжлийн бодлого зэрэг үндэсний бодлогын баримт бичгүүдэд тусгагдсан байдаг. Тиймээс ч Монгол улсын Засгийн газраас энэ асуудалд анхаарлаа хандуулж, өөрийн орны Генетик нөөцийн тухай хуулийг батлахаар ажиллаж байгаа энэ үед генетик нөөцийн судалгаа чухлаар тавигдаж байна.

Бичил биетнүүд дэлхий дээрх БОЯБ-ын дийлэнх хувийг эзэлж, шим тэжээлийн бодисын эргэлт, экосистемийн тэнцвэрт байдлыг хадгалахад амин чухал үүргийг гүйцэтгэдэг төдийгүй биотехнологийн тулгуур болдог тул өөрийн орны бичил биетний олон янз, генетик нөөцийг судалж мэдэх, тогтвортой ашиглах нөхцлийг бүрдүүлэх зайлшгүй шаардлагатай. Түүний дотор эндофит буюу амьд ургамлын эд дотор амьдарч ургамлыг хамгаалах, гадны нөлөөнд тэсвэрлэх чадварыг олгох бодис нийлэгжүүлснээр ургамалд бодит ашиг тусаа өгдөг бичил биетнүүд байдаг. Эндофит гэдэг нь “ургамлын дотор” (Грекээр endon - дотор; phyton - ургамал) гэсэн утгатай үг бөгөөд эндофит хэлбэрээр оршдог хамгийн түгээмэл бичил биетнүүд нь мөөгөнцөр ба бактери юм. Тэдгээр нь антибиотик, антиоксидант, вирусын эсрэг, хавдрын эсрэг г.м. олон биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэх өндөр чадвартайгаас гадна зарим эмийн ургамлын эндофит эзэн ургамалтай адил эмт бодис нийлэгжүүлэх чадвартай (Strobel & Daisy, 2003). Тийм

эндофитыг ашигласнаар удаан ургадаг, ховор эмийн ургамлын хэрэглээг багасгаж тэдгээрийн нөөц, төрөл зүйлийг хамгаалах төдийгүй, чухал ач холбогдол бүхий эмт бодисыг хялбар бөгөөд эдийн засгийн хувьд хэмнэлттэй үйлдвэрлэх боломжтой. Сүүлийн жилүүдэд эндофит бичил биетний судалгаа олон орны эрдэмтдийн анхаарлыг асар ихээр татаж, Thomson Reuters БНХАУ-ын ШУА-тай хамтран гаргасан 2014 оны шинжлэх ухааны тэргүүлэх чиглэлийн жагсаалтад орсон байдаг (Research front, 2014).

Бид 2009 оноос энэ судалгааг эхлүүлж, эндофит ялгах, тодорхойлох, ашигт шинж чанарыг тогтоох аргазүй, туршилтын бааз тогтворжиж, мэргэжилтэн бэлтгэгдсэн ба судалгааны дүнд эмийн ургамлын эндофитүүд микробын эсрэг идэвх өндөр, ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвартай болохыг тогтоосон. Цаашид судалгааг өргөжүүлж нэн ховор, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй эмийн ургамлуудаас эндофит бичил биетнийг ялган *ex-situ* хамгаалах, биологийн идэвхийг нарийвчлан судалж, шинжлэх ухаанд суурилсан бүтээгдэхүүн үйлдвэрлэх суурийг тавих шаардлагатай байна.

1.2. Төслийн зорилго, зорилт

Энэхүү төслийн зорилго нь Монгол орны нэн ховор, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй эмийн ургамлуудаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн болон мэдээллийн сан бүрдүүлж, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа хийхэд оршино. Зорилгодоо хүрэхийн тулд дараах зорилтуудыг тавьж байна. Үүнд:

1. Монгол орны устаж буй, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй эмийн ургамлуудаас эндофит бактери, мөөгөнцрийн өсгөвөр ялган авч, тэдгээрийг молекул маркер ашиглан тодорхойлж, *ex-situ* хамгаалах;
2. Эндофит бичил биетний өсгөврийн болон мэдээллийн санг бүрдүүлж, мэдээллийг дэлхийн бичил биетний глобал каталогт байршуулах;
3. Эндофит бичил биетний микробын эсрэг идэвх, ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар зэрэг биологийн идэвхийг нарийвчлан судлах;
4. Шинэ бодис эсвэл эзэн ургамалтайгаа адил эмт бодис нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоож, тэдгээрийг ашигласан хэрэглээнд чиглэсэн туршилт судалгаа хийх;

1.3. Урьдчилсан судалгаа хийгдэж судлагдсан байдал

Олон улсад эндофит мөөгөнцрийн судалгаа анх 1898 онд хийгдсэн бөгөөд 1990-ээд оноос маш эрчимжиж, 2000-аад оноос олон тооны тойм бүтээлүүд хэвлэгдсэн (Hyde & Soyong, 2008). Манай орны хувьд бид энэ судалгааг анх 2009 оноос эхлүүлж, Монгол орны зарим зүйл, ялангуяа эмийн ургамлаас эндофит мөөгөнцрийн өсгөврийг ялган уламжлалт арга болон молекул маркер ашиглан тодорхойлж, тэдгээрийн микробын эсрэг идэвх, ферментийн идэвх, ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар, алкалоидын нийлэгжлийг судлан тогтоож, зарим өсгөврөөс нийлбэр алкалоидыг ялган биологийн идэвхийг туршсан судалгааны ажлуудыг гүйцэтгэж ирсэн. Тэдгээрээс заримыг дурьдвал, анх 2009 онд Монгол орны 14 зүйлийн эмийн ургамлын үндэс, иш, навчнаас эндофит мөөгөнцрийн 83 цэвэр өсгөвөр ялган, тэдгээрийн Грам эерэг бактери, спор үүсгэгч бактери, Грам сөрөг бактери болон хөрөнгө мөөгөнцрийн эсрэг антагонист идэвхийг тодорхойлоход нийт 83 өсгөврөөс 61 нь буюу 73.5% нь аль нэг тест бичил биетний өсөлтийг дарангуйлж байсан буюу микробын эсрэг идэвх маш өндөр болохыг харуулсан (Enkh-Amgalan, 2013). Шаргалдуу лидэрээс ялгасан 15 өсгөврийн микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлоход 86.6% нь Грам сөрөг, 80% нь Грам эерэг бактерийн, 66.6% нь спор үүсгэгч бактери, 60% нь дрожжийн, мөн 93.3% нь мөөгөнцрийн өсөлтийг дарангуйлсан ба 15 өсгөвөр бүгд аль нэгэн тест организмын эсрэг идэвх үзүүлсэн нь маш сонирхолтой үр дүн байсан. Мөн 1 өсгөвөр ИЦХ нийлэгжүүлдэг, 4 өсгөвөр фосфат уусгах чадвартай ба 12 өсгөвөр төмрийн ионыг зөөвөрлөх чадвартай, SFG-S-3 өсгөвөр дээрх 3 янзын механизмаар ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвартай болохыг тогтоосон (Адъяадолгор ба Энх-Амгалан, 2014). Тиймээс эдгээр өсгөврийн мицелл болон өсгөврийн шингэнийг гексан, этилацетат, хлороформ зэрэг органик уусгагчид хандлан бактерийн эсрэг идэвхийг *Staphylococcus aureus*, *Streptomyces aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* гэсэн 6 тест организм дээр туршихад нийт 90 ханднаас 36 нь аль нэг бактерийн эсрэг 90% идэвх үзүүлсэн (Adiyadolgog et al, 2018). 2013 онд 8 зүйл ургамлын эндофит мөөгөнцрийн 30 өсгөврийн 28S рРНХ-н D1/D2 домейны нуклеотидын дарааллыг тогтоож, филогенетик анализ хийн төрлийн хамаарлыг тодорхойлоход тэдгээр нь 11 төрөлд хамаарагдсанаас 6 нь манай оронд

тэмдэглэгдэж байгаагүй шинэ төрлүүд байсан нь ургамлын дотор амьдардаг мөөгөнцрүүд хөрснийхөөс ялгаатай болохыг харуулсан (Энх-Амгалан ба бусад, 2014).

Монгол орны алкалоид агуулдаг ургамлуудаас ялгасан эндофит мөөгөнцрийн 55 өсгөвөр дээр алкалоидын нийлэгжлийг НҮХ аргаар шинжилсний дүнд 5 өсгөвөр алкалоид нийлэгжүүлдэг болохыг тогтоож, тэдгээрийн нийлбэр алкалоидыг цэвэршүүлэн микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлоход SFG-S1 ба 16T6-F3 өсгөврийн нийлбэр алкалоид дрожж болон мөөгөнцрийн эсрэг идэвхтэй, SFG-R3, 16T6-F3, 14R-1 өсгөврийн нийлбэр алкалоид элэгний хавдрын HerG2 эсийг дарангуйлах идэвхтэй байсан (Амарбаясгалан ба бусад, 2018).

2. СУДАЛГААНЫ МАТЕРИАЛ, АРГАЗҮЙ

2.1. Судалгааны материал

2021 онд Нөмрөгт банздоо (*Saussurea involucrata* Kar. et Kir.), Эгэл өмхий өвс (*Peganum harmala* L.), Төвд ланцай (*Lancea tibetica*) 3 зүйл нэн ховор, Зүүнгарын гоёо (*Synotarium songaricum*), Пржевальскийн зээргэнэ (*Ephedra przewalskii* Stapf.), Урал чихэр өвс (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC.), Ягаан цээнэ (*Paeonia anomala* L.), Их шүүдэргэнэ (*Chelidonium majus*) 5 зүйл ховор ургамал (Зураг 1), 2022 онд Монгол алтан хундгана (*Adonis mongolica*), Шар саадган цэцэг (*Cypripedium calceolus* L.), Гурвалсан шүр үндэс (*Corallorhiza trifida* Chatel.), Эгэл годил (*Acorus calamus*), Цагаан цээнэ (*Paeonia lactiflora*) 5 зүйл нэн ховор, Үнэгэн сүүлхэй лидэр (*Sophora alopecuroides* L.) 1 зүйл ховор ургамал (Зураг 2), Ганга өвс (*Thymus* sp.) 1 зүйл элбэг боловч ашиглалтанд өртөмтгий ургамлын эндофит бичил биетнийг судлахаар БОАЖЯамнаас зохих зөвшөөрлийг (Зураг 1,2) тус тус авсны дагуу дээж материалыг Говь-Алтай, Баянхонгор, Архангай, Төв, Сэлэнгэ, Хэнтий аймгийн нутаг дэвсгэрээс 2021 оны 7,8 сар, 2022 оны 6-8 сард түүж бэлтгэн, нийт 15 зүйлийн 18 дээж ургамлыг (Хүснэгт 1, Зураг 3,4) судалгааны материал болгон ашиглалаа. Ургамлын ангилалзүйн тодорхойлолтыг Боловсролын Их Сургуулийн Биологийн тэнхимийн багш, доктор В. Гүндэгмаа хийж гүйцэтгэв.

Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

Байгаль орчин, аялал жуулчлалын сайлын
2016 оны 09 дүгээр сарын 01-ний өдрийн
А/27 тоот тушаалын 3 дугаар хавсралт

МОНГОЛ УЛС
БАЙГАЛЬ ОРЧИН, АЯЛАЛ ЖУУЛЧЛАЛЫН ЯАМ

**БАЙГАЛИЙН ХОВОР УРГАМЛЫГ ТҮҮЖ,
БЭЛТГЭХ ЗӨВШӨӨРӨЛ**

20 21 08 дугаар
сарын 19 -ны өдөр

№ 0170041

Улаанбаатар хот

1. Иргэн, байгууллагын нэр,
регистрийн дугаар

2. Иргэн, байгууллагын хаяг,
утас /факс/-ны дугаар

3. Мэргэжлийн байгууллагын
гэрчилгээний дугаар

4. Бэлтгэх ургамлын зүйлийн нэр
эд эрхтний нэр /монгол, латин нэр/

5. Бэлтгэх тоо хэмжээ
/нойтон эшигээр, кг/

6. Бэлтгэх хугацаа

7. Бэлтгэх газар
/аймаг, сум, газрын нэр/

8. Бэлтгэх газрын байршлын
солбицол

9. Зөвшөөрөл олгосон:
Эрх бүхий албан тушаалтан
/нэр, гарын үсэг, тамга/

10. Бэлтгэхэд хяналт тавьж
ажилласан улсын байцаагч

ШУА БИОЛОГИЙН ХҮРЭЭЛЭН
Регистр: 5933536

**УБ, БГД, 13-р хороо, энхтайвны өргөн чөл
546, ШУА-ийн Биологийн хүрээлэнгийн ба
утас:11451781**

9070006009

**Хавсралтад дурдсан 8 зүйл нэн ховор
ургамлын дээж**
судалгаа шинжилгээний зориулалтаар!

Нийт: 22ш /Хорин хоёр ширхэг/

2018.07.30- 2018.08.31-ний өдрийг хүртэл

**Говь-Алтай, Ховд, Архангай, Увс,
Төв аймгуудаас**

X 45°20'44" X 47°24'52" X 46°34'82"
Y 97°39'45" Y 104°45'29" Y 91°27'19"

ХБОБНУГ-ын дарга
Ч.БАТСАНСАР
ХБОБНУГ-ын мэргэжилтэн
Г.Оюунгэрэл

1119278525-9085084

Байгалийн ховор ургамлыг түүж
бэлтгэх 0170041 дугаартай
зөвшөөрлийн хавсралт

ДЭЭЖ МАТЕРИАЛЫН ЖАГСААЛТ

| Монгол нэршил | Латин нэршил | Статус | Тоо ширхэг | Дээж авах аймаг | Солбицол |
|--------------------|--|-----------|------------|--------------------|--|
| 1 Нөмрөг банздоо | <i>Saussurea involucrata</i> (Kar. et Kir.) | Нэн ховор | 1 | Говь-Алтай Ховд | X 45°20'44" Y 97°39'45" X 46°34'82" Y 91°27'19" |
| 2 Эгэл өмхий өвс | <i>Peganum harmala</i> L. | Нэн ховор | 3 | Говь-Алтай | X 44°99'44" Y 96°42'02" |
| 3 Төвд ланцай | <i>Lancea tibetica</i> | Нэн ховор | 3 | Архангай | X 47°24'52" Y 101°45'29" |
| 4 Зүүнгарын гоёо | <i>Synamorium songaricum</i> | Ховор | 3 | Говь-Алтай Увс | X 45°33'43" Y 98°13'12" X 44°59'23" Y 96°16'43" |
| 5 Ягаан цээнэ | <i>Paeonia anomala</i> L. | Ховор | 3 | Төв | X 48°21'97" Y 106°44'06" |
| 6 Их шүүдэргэнэ | <i>Chelidonium majus</i> | Ховор | 3 | Төв | X 47°19'45" Y 104°29'58" |
| 7 Нангиад зээргэнэ | <i>Ephedra sinica</i> Stapf | Ховор | 3 | Говь-Алтай | X 45°36'39" Y 98°17'50" |
| 8 Урал чихэр өвс | <i>Glycyrrhiza uralensis</i> (Fisch. ex DC.) | Ховор | 3 | Говь-Алтай | X 45°34'22" Y 98°11'38" |

Зураг 1. БОАЖЯамны Байгалийн ховор ургамлыг түүж бэлтгэх зөвшөөрөл, хавсралтын хамт (2021 он)

Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

Байгаль орчин, аялал жуулчлалын сайдын
2016 оны 09 дүгээр сарын 01-ний өдрийн
А/27 тоот тушаалын 3 дугаар хавсралт

МОНГОЛ УЛС
БАЙГАЛЬ ОРЧИН, АЯЛАЛ ЖУУЛЧЛАЛЫН ЯАМ

**БАЙГАЛИЙН ХОВОР УРГАМЛЫГ ТҮҮЖ,
БЭЛТГЭХ ЗӨВШӨӨРӨЛ**

20**22** оны **09** дугаар сарын **19** -ны өдөр № **0210027** Улаанбаатар хот

1. Иргэн, байгууллагын нэр, регистрийн дугаар **БИОЛОГИЙН ХҮРЭЭЛЭН**
Регистр: **5933536**

2. Иргэн, байгууллагын хаяг, утас /факс/-ны дугаар Улаанбаатар, Баянзүрх, 13-р хороо, энхтайваны Өргөн чөлөө, 545, ШУА-ийн байр
Утас: 453088

3. Мэргэжлийн байгууллагын гэрчилгээний дугаар **9070006009**

4. Бэлтгэх ургамлын зүйлийн нэр эд эрхтний нэр (Монгол, латин нэр) **Хавсралтад заасан 6 зүйл ургамал Судалгаа шинжилгээний зориулалтаар/**

5. Бэлтгэх тоо хэмжээ **Нийт: 1.5 кг**
(нойтон жингээр, кг) /Нэг аравны таван килограмм/

6. Бэлтгэх хугацаа **2022.09.19-2022.10.19-ний өдрийг хүртэл**

7. Бэлтгэх газар **Төв, Сэлэнгэ, Баянхонгор, Хэнтий Дорнод**
(аймаг, сум, газрын нэр)

8. Бэлтгэх газрын байршлын солбицол

9. Зөвшөөрөл олгосон: ХБОБНУ-ын газрын даргын албан үүргийг түр Орлонгийн эрх зүйч, АУБНХ-ийн дарга
Эрх бүхий албан тушаалтан 1. *[Signature]* **П.ЦОГТСАЙХАН**
(нэр, гарын үсэг, тамга) ХБОБНУГ-ын мэргэжилтэн 2. *[Signature]* **Г.ОЮУНГЭРЭЛ**

10. Бэлтгэхэд хяналт тавьж ажилласан улсын байцаагч 1. _____
2. _____

Байгалийн ховор ургамлыг
түүж, бэлтгэх 0210027 дугаартай
зөвшөөрлийн хавсралт

ДЭЭЖ МАТЕРИАЛЫН ЖАГСААЛТ

| | Монгол нэршил | Латин нэршил | Статус | Тоо ширхэг | Дээж авах аймаг | Солбицол |
|---|----------------------|---------------------------------------|-----------|------------|------------------|-----------------------------------|
| 1 | Шар саадгана | <i>Cypripedium calceolus L.</i> | Нэн ховор | 200 гр | Төв аймаг | N 48°32'39.13" E 106°3'29.24" |
| | | | | | Сэлэнгэ аймаг | N 49°59'9.66" E 106°14'22.59" |
| 2 | Монгол алтан хундага | <i>Rhodiola rosea</i> | Нэн ховор | 300 гр | Төв аймаг | N 48°42'45.61" E 106°3'17.51" |
| | | | | | Хэнтий аймаг | N 47°16'24.48" E 110°38'53.23" |
| 3 | Гурвалсан шүр үндэс | <i>Corallorhiza trifida Chatel.</i> | Нэн ховор | 100 гр | Төв аймаг | N 48°44'41.67" E 106°25'28.23" |
| | | | | | Сэлэнгэ аймаг | N 49°58'33.14" E 106°15'5.65" |
| 4 | Эгэл годил | <i>Acorus calamus</i> | Нэн ховор | 300 гр | Сэлэнгэ аймаг | N 50°3'19.33" E 106°7'12.87" |
| | | | | | Хэнтий аймаг | N 47°15'36.11" E 110°39'45.45" |
| 5 | Цагаан цээнэ | <i>Paeonia lactiflora /albiflora/</i> | Нэн ховор | 300 гр | Хэнтий аймаг | N 47°15'36.11" E 110°39'45.45" |
| | | | | | Дорнод аймаг | N 47°33'4.24" E 118°46'11.02" |
| 6 | Үнэгэн сүүлхэй лидэр | <i>Sophora alopecuroides L.</i> | Ховор | 200 гр | Баянхонгор аймаг | N 44°5'56.79" E 99°16'31.74" |
| | | | | | Говь-Алтай аймаг | N 44°35'23.41" E 97°55'24.31" |

Зураг 2. БОАЖЯамны Байгалийн ховор ургамлыг түүж бэлтгэх зөвшөөрөл, хавсралтын хамт (2022 он)

Дээж авсан газар болон ургамлын мэдээлэл

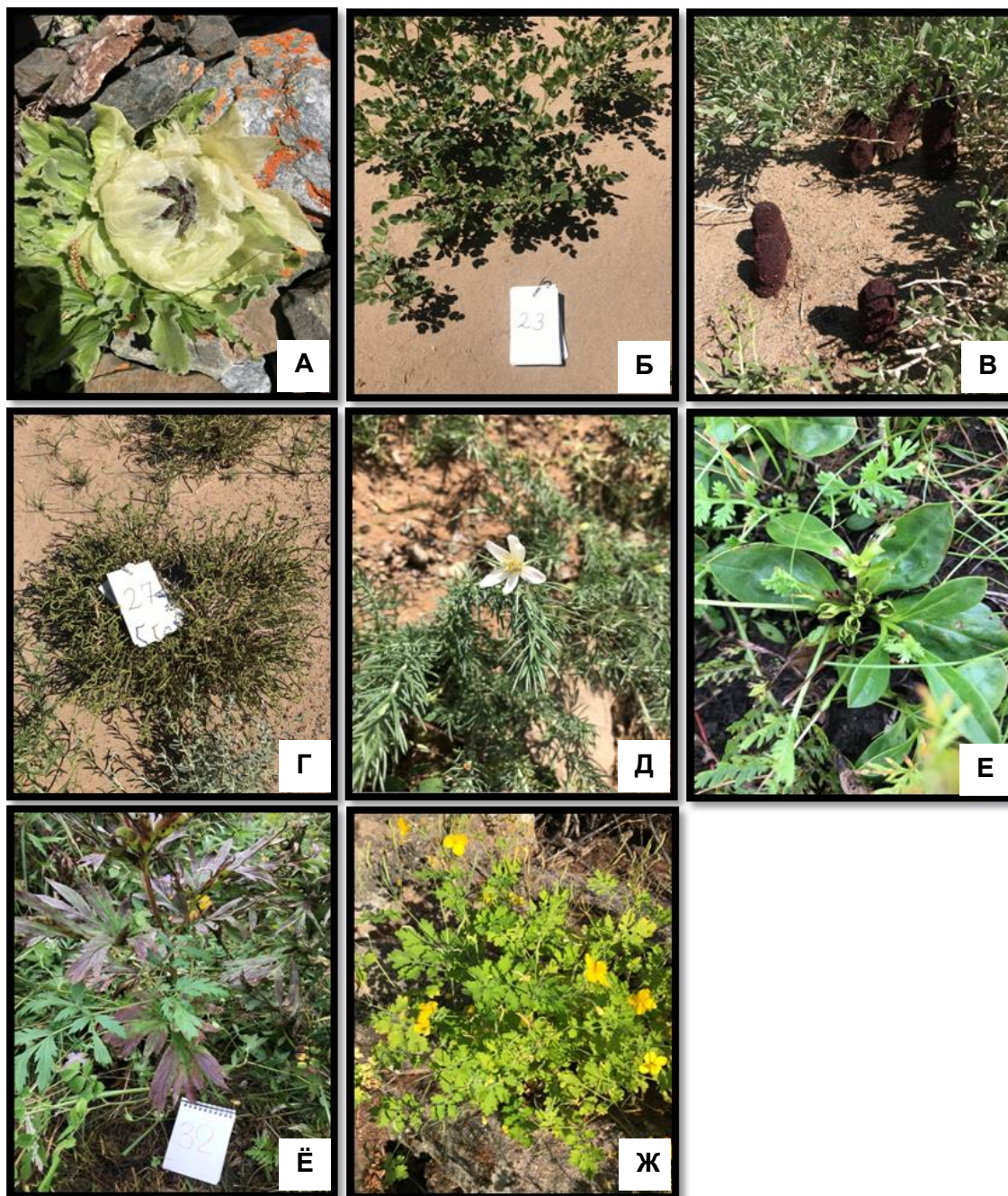
Хүснэгт 1.

| № | Дээж авсан цэг | Дээжний дугаар | Латин нэр | Монгол нэр |
|----|--|----------------|--|---|
| 1 | Говь-Алтай, Чандмань (N45°20'44" E97°39'45") 3250м | P20 | <i>Saussurea involucrata</i> | Нөмрөгт банздоо |
| 2 | Говь-Алтай, Чандмань (N45°34'43" E98°11'38") 1740м | P23 | <i>Glycyrrhiza uralensis</i> | Урал чихэр өвс |
| 3 | Говь-Алтай, Чандмань (N45°34'43" E98°13'12") 1730м | P26 | <i>Cynomorium songaricum</i> | Зүүн гарын гоёо |
| 4 | Говь-Алтай, Чандмань (N45°34'43" E98°17'50") 1730м | P27 | <i>Ephedra Przewalskii</i> Stapf ¹ | Пржевальскийн зээргэнэ (хонин зээргэнэ) |
| 5 | Архангай, Цахир (N47°24'52" E101°45'29") 1549м | P31 | <i>Lancea tibetica</i> | Төвд ланцай |
| 6 | Төв, Баянчандмань (N48°11'23" E106°21'37") 1280м | P32 | <i>Paeonia anomala</i> L. | Ягаан цээнэ |
| 7 | Төв, Богд уул, Хүрхрээ ам (N47°50'52" E107°5'17") 1310м | P33 | <i>Chelidonium majus</i> | Их шүүдэргэнэ |
| 8 | Говь-Алтай, Цогт (N44°95'97" E96°75'66") | P35 | <i>Peganum harmala</i> L. ² | Эгэл өмхий өвс |
| 9 | Баянхонгор, Бүлтгэр цагаан (N44°99'89" E100°57'40") | P36 | <i>Peganum harmala</i> L. | Эгэл өмхий өвс |
| 10 | Баянхонгор, Бүлтгэр цагаан (N44°99'89" E100°57'40") | P37 | <i>Sophora alopecuroides</i> L. ² | Үнэгэн сүүлхэй лидэр |
| 11 | Говь алтай аймаг, Цогт сум (N44°95'97" E96°75' 66") | P38 | <i>Sophora alopecuroides</i> L. | Үнэгэн сүүлхэй лидэр |
| 12 | Улаанбаатар ботаникийн цэцэрлэгт хүрээлэн (N47°90'983" E107°00' 004") | P1 | <i>Adonis mongolica</i> ² | Монгол алтан хундгана |
| 13 | Төв, Батсүмбэр (N48°52'418" E106°85'126") | P2 | <i>Adonis mongolica</i> | Монгол алтан хундгана |
| 14 | Төв, Батсүмбэр (N48°52'418" E106°85'126") | P3 | <i>Cypripedium calceolus</i> L. | Шар саадгана цэцэг |
| 15 | Төв, Батсүмбэр (N48°52'418" E106°85'126") | P5 | <i>Corallorhiza trifida</i> Chatel | Гурвалсан шүр үндэс |
| 16 | Сэлэнгэ аймаг, Дулаанхаан (N49°55'041" E106°11'67") | P6 | <i>Acorus calamus</i> | Эгэл годил |
| 17 | Хэнтий, Дадал (N47°15'36.11" E110°39'45.45") | P8 | <i>Paeonia lactiflora</i> /albiflora/ | Цагаан цээнэ |
| 18 | Улаанбаатар, Шарга морьт (N48°7'59.72" E106°53'3.16") | P9 | <i>Thymus</i> sp. | Ганга өвс |

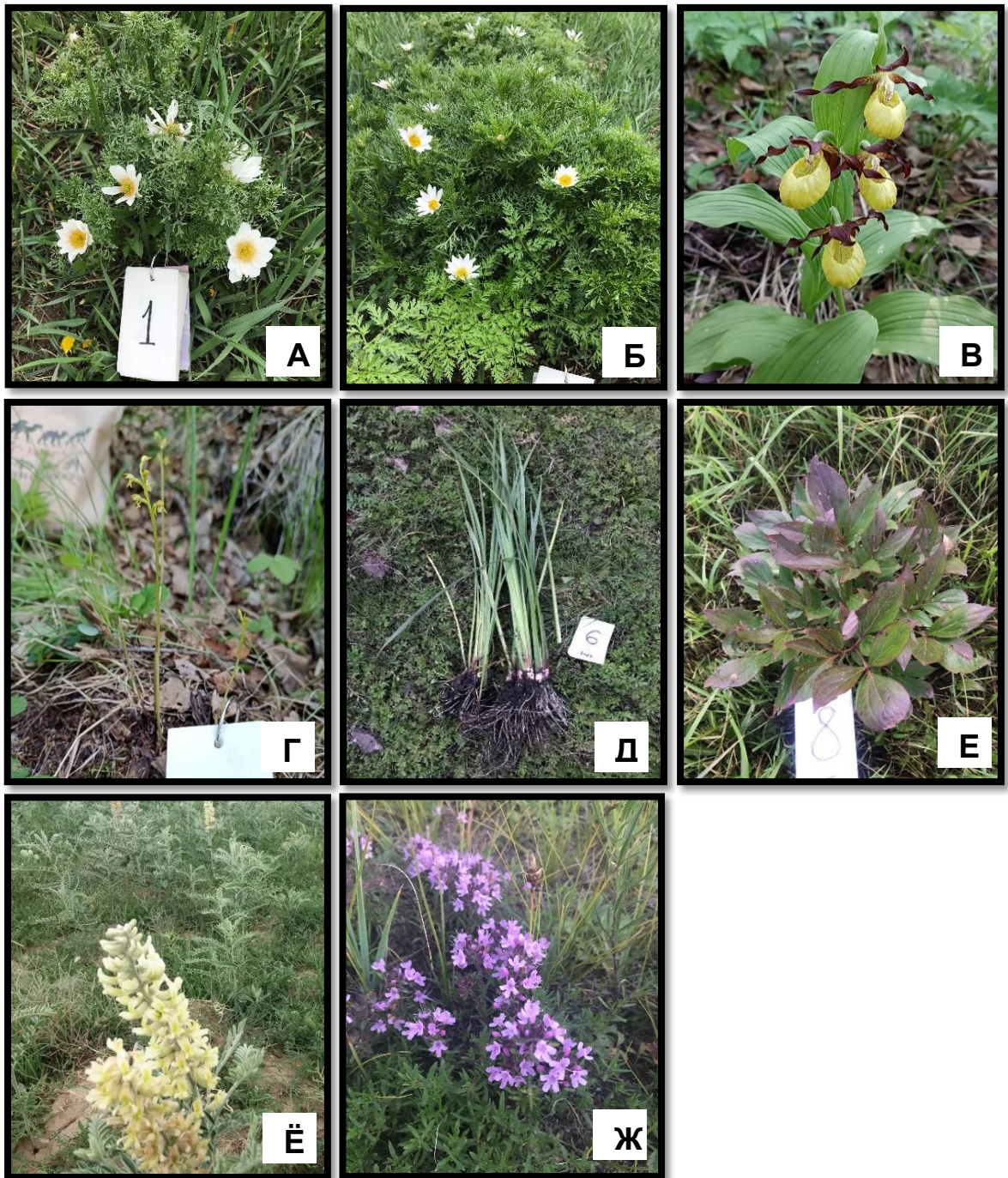
Тайлбар:

¹ - *Ephedra sinica* буюу Нангиад зээргэнэ авахаар төлөвлөсөн боловч олдоогүй тул тухайн төрлийн өөр зүйл болох *Przewalskii Stapf* буюу Пржевальскийн зээргэний дээж авсан.

² - ургамлын дээжийг 2 өөр газраас авсан.



Зураг 3. 2021 онд судалгааны зориулалтаар цуглуулсан дээж ургамал. А. Нөмрөгт банздоо, Б. Урал чихэр өвс, В. Зүүнгарын гоёо, Г. Пржевальскийн зээргэнэ, Д. Эгэл өмхий өвс, Е. Төвд ланцай, Ё. Ягаан цээнэ, Ж. Их шүүдэргэнэ

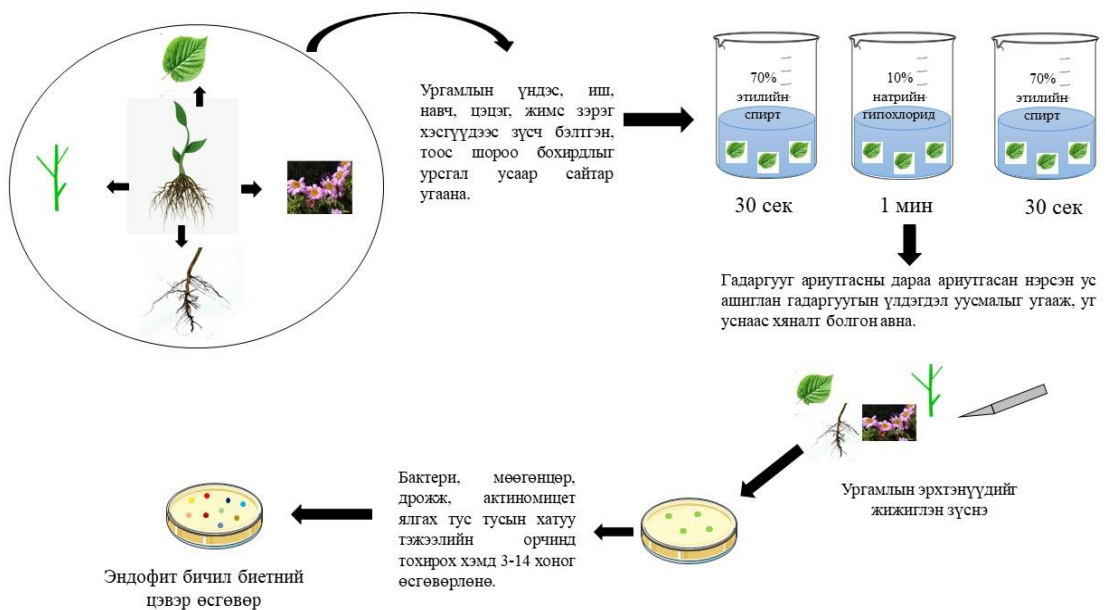


Зураг 4. 2022 онд судалгааны зориулалтаар цуглуулсан дээж ургамал.

- А. Нөмрөгт банздоо, Б. Урал чихэр өвс, В. Зүүнгарын гоёо, Г. Пржевальскийн зээргэнэ,
Д. Эгэл өмхий өвс, Е. Төвд ланцай, Ё. Ягаан цээнэ, Ж. Их шүүдэргэнэ
А. Монгол алтан хундгана (Ботаник), Б. Монгол алтан хундгана (Төв аймаг),
В. Шар саадган цэцэг, Г. Гурвалсан шүр үндэс, Д. Эгэл годил, Е. Цагаан цээнэ,
Ё. Үнэгэн сүүлхэй лидэр, Ж. Ганга өвс

2.2. Эндофит бичил биетэн ялгах арга зүй

Эндофит бичил биетний цэвэр өсгөвөр ялгахад эхлээд дээж ургамлын үндэс, иш, навч, цэцэг, жимс зэрэг хэсгүүдээс зүсч бэлтгэн (3x3 см), тоос шороо бохирдлыг урсгал усаар сайтар угаана. Угаасны дараа 70%-ийн этилийн спиртээр 1-2 мин, 3%-ийн натрийн гипохлоридоор 2-4 мин, 70%-ийн этилийн спиртээр дахин 1 мин ариутгана. Гадаргууг ариутгасны дараа ариутгасан нэрсэн ус ашиглан гадаргуугийн үлдэгдэл уусмалыг угааж, уг уснаас хяналт болгон авна. Үүний дараа ариутгасан ургамлын хэсгээ ариутгасан фильтрийн цаасан дээр тавьж хатаана. Хатсаны дараа ариутгасан шилэн дээр тавьж ариутгасан хутга, пинцетээр (0,5 x 0.5 см) зүсч дотор эдийг ил гаргаад зохих антибиотик агуулсан PDA, YM, Gauze-1 ба LB агар хатуу орчин дээр суулгаж, мөөгөнцрийг 28°C-д 7-21 хоног, дрожжийг 28°C-д 7-14 хоног, актиномицетийг 28°C-д 7-21 хоног, бактерийг 28°C ба 37°C-д 1-7 хоног өсгөвөрлөнө. Ургасан бичил биетнийг зохих тэжээлийн орчинд шилжүүлэн суулгаж цэвэршүүлнэ. (Enkh-Amgalan, 2013). Эндофит бичил биетэн ялгах ажлын явц болон тэжээлт орчны найрлагыг (хүснэгт 2, зураг 5) харуулав.



Зураг 5. Эндофит бичил биетэн ялгах аргазүй

Эндофит бичил биетэн ялгах тэжээлт орчны найрлага

Хүснэгт 2.

| Ялгаж авах бичил биетэн | Тэжээлт орчны нэр | Тэжээлт орчны найрлага | Хэмжээ г/л |
|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------|
| Мөөгөнцөр | Potato Dextrose Agar (PDA) | декстроз | 20,0 |
| | | төмсний ханд | 4,0 |
| | | агар | 15,0 |
| | | хлорамфеникол | 0,2 |
| Дрожж | Yeast malt Agar (ҮМ агар) | дрожжийн ханд | 3,0 |
| | | соёолжны ханд | 3,0 |
| | | пептон | 5,0 |
| | | декстроз | 10,0 |
| | | хлорамфеникол | 0,2 |
| | | агар | 20,0 |
| Актиномицет | Гауз 1 агар | цардуул | 20,0 |
| | | K ₂ HPO ₄ | 0,5 |
| | | MgSO ₄ | 0,5 |
| | | NaCl | 0,5 |
| | | KNO ₃ | 1,0 |
| | | FeSO ₄ | 0,01 |
| | | циклогексимид | 0,2 |
| | | агар | 20,0 |
| Бактери | Luaria-Bertani Broth (LB агар) | казейн пептон | 10,0 |
| | | дрожжийн ханд | 5,0 |
| | | NaCl | 10,0 |
| | | циклогексимид | 0,2 |

2.3. Эндофит бичил биетнийг тодорхойлох арга зүй

2.3.1. Мөөгөнцрийн төрлийн хамаарлыг морфологи бүтцээр тодорхойлох

Мөөгөнцрийн төрлийг тодорхойлоход урьдчилан нүүрстөрөгчөөр ядмаг орчин (LCA)-д 7-14 хоног өсгөвөрлөнө. Өсгөврийн бэлдэц бэлтгэн спор, мицель, морфологи бүтцийг нь Olympus CX41 гэрлийн микроскопоор 40x-500x өсгөлттэй харж, стандарт түлхүүр толь бичиг ашиглан тодорхойлно (Ando, 2014). Мөөгөнцрийн төрлийг тодорхойлох ажлын үйл явц болон тэжээлт орчны найрлагыг (хүснэгт 3, зураг 6) харуулав.

Нүүрстөрөгчөөр ядмаг орчны найрлага

Хүснэгт 3.

| Организм | Тэжээлт орчны нэр | Тэжээлт орчны найрлага | Хэмжээ г/л |
|-----------|-----------------------|--|--|
| Мөөгөнцөр | Low Carbon Agar (LCA) | глюкоз дрожжийн ханд KН ₂ PO ₄ MgSO ₄ *7H ₂ O KCl NaNO ₃ агар | 1,0 0,2 1,0 0,2 0,2 2,0 20,0 |



Зураг 6. Мөөгөнцрийн төрөл тодорхойлох аргагүй

2.3.2. Бичил биетний рРНХ генийн (мөөгөнцөр, дрожжийг 28S рРНХ генийн D1/D2 домейн, бактери, актиномицетийг 16S рРНХ генийн) нуклеотидын дарааллыг тогтоож, түүнд тулгуурлан төрлийн хамаарлыг тодорхойлох

Бичил биетний геномын ДНХ-г "Prepman Ultra Sample Reagent" цомог ашиглан үйлдвэрлэгч компанийн зааврын дагуу бэлдэнэ. Мөөгөнцөр, дрожжийн ITS хэсэг болон 28S рРНХ генийн D1/D2 домейныг хамтад нь ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG3'-) болон NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3') гэсэн хос праймер ашиглан ПГУ хийж олшруулсан. ПГУ-г FastTaq цомгийг ашиглан, GeneAmp PCR System 9700 машинд 94°C-д 2 мин (1цикл); 92°C-д 10 сек; 56°C-д 30 сек; 68°C-д 90 сек (30 цикл), 68°C-д 5 мин горимын дагуу явуулна. ПГУ бүтээгдэхүүнийг Accuprep® kit ашиглан цэвэршүүлж, нуклеотидын

дарааллыг ZanaaSpex, БНСУ-ын Макрожен зэрэг компаниар тодорхойлуулна. Нуклеотидын дарааллыг MEGA 10 программ ашиглан харьцуулалт хийнэ.

Бактерийн төрлийг тодорхойлохдоо орчин үеийн молекул биологийн арга зүй болох 16S рРНХ секвенсийн аргаар тодорхойлно. Геномын ДНХ-г “Quick Tissue/Culture Cells DNA Extraction Kit” цомог ашиглан зааврын дагуу ялгав. 16S рРНХ генийг 9F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') болон 1541R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') хос праймер ашиглаж ПГУ-ын аргаар олшруулна. ПГУ-ыг GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystem) машинд 95°C-д 3 мин, (95°C-д 30 сек, 55°C-д 15 сек, 72°C-д 1 мин) x 30 цикл, 72°C-д 5 мин нөхцөлөөр явуулна. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг “Quick Tissue/Culture Cells DNA Purification Kit” цомгийг ашиглаж цэвэршүүлнэ. Цэвэршүүлсэн бүтээгдэхүүний нуклеотидын дарааллыг ZanaaSpex, БНСУ-ын Макрожен зэрэг компаниар тодорхойлуулна. Нуклеотидын дарааллыг MEGA 10 программ ашиглан харьцуулалт хийнэ. (Arbefeville *et al*, 2017; Tamura *et al*, 2013).

2.4. Микробын эсрэг идэвх тодорхойлох арга зүй

2.4.1. Агар блокийн арга

Эндофит бичил биетний микробын эсрэг идэвх тодорхойлохдоо 5 тест организм буюу Грам эерэг бактери *Staphylococcus aureus*, Грам эерэг спор үүсгэгч бактери *Bacillus subtilis*, Грам сөрөг бактери *Escherichia coli*, дрожж *Candida albicans*, мөөгөнцөр *Aspergillus niger* ашигласан. 0.5 McFarland-ын уусмал ашиглан бактерийн тест өсгөврийг 5×10^7 эс/мл, дрожжыг 2×10^4 эс/мл, мөөгөнцрийг 2×10^4 эс/мл байхаар тооцож тэжээлт орчинд тарьсан. Мөөгөнцрийн өсгөврөөс 6мм диаметртэй блок зүсч аваад, тест организмтай орчинд тавьж 28°C болон 35°C-д 48 цаг өсгөвөрлөсөн. Мөөгөнцрийн өсгөврийн эргэн тойронд үүссэн цэвэр зоныг хэмжиж, эерэг хяналттай (канамицин сульфат 25мг/мл, циклогексимид 20мг/мл) харьцуулан микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлсон (Balouiri *et al.*, 2016).

2.4.2. Диск диффузийн арга

5 тест организм буюу *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* ашигласан. 0.5 McFarland-ын уусмал

ашиглан бактерийн тест өсгөврийг 5×10^7 эс/мл, дрожж, мөөгөнцрийг 2×10^4 эс/мл байхаар тооцож тэжээлт орчинд тарьсан. Мөөгөнцрийн өсгөврийн хандны дээжнээс 500мкг/мл концентрацитай (0.1% DMSO-д уусгасан) бэлдэж цаасан дискэнд (6мм диаметр) шингээн тест организмтай орчинд тавьж 35°C-д 24-48 цаг өсгөвөрлөсөн. Бактери, актиномицет, дрожжийн өсгөврийг шингэн тэжээлийн орчинд өсгөвөрлөнө. Тест организм бүхий хатуу тэжээлт орчинг 6мм диаметртэй блок зүсч аваад нүхэнд нь өсгөврийн шингэнээс 0.1мл-ийг хийн тохирох хэмд өсгөвөрлөнө. Мөөгөнцрийн ханд шингээсэн диск болон бактери, актиномицет, дрожжийн эргэн тойронд үүссэн цэвэр зоныг хэмжиж, эерэг хяналттай (канамицин сульфат 25мг/мл, циклогексимид 20мг/мл) харьцуулан микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлсон (Balouiri *et al.*, 2016).

2.5. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар

2.5.1. Индол цууны хүчил (ИЦХ) үүсгэлт, ИЦХ-ын хэмжээ тодорхойлох

Эндофит бичил биетний өсгөврийг тус тусын ургадаг тэжээлт орчинд 0.5% триптофан нэмж тохирох хэмд ургуулна. Индол цууны хүчил үүсэлтийг тодорхойлохдоо өсгөврийн шингэнээс 1.5 мл-ийг авч 15000 эрг/мин-аар 5мин центрифугдэнэ. Центрифугдсэний дараа дээд хэсгээс 1 мл авч, дээр нь 2 мл Салковскийн урвалж нэмээд сайтар хольж өрөөний температурт харанхуй нөхцөлд 20 мин байлгана. Шингэний өнгө тод улаан болсон нь индол цууны хүчил үүсэлт эерэг гэж үзнэ (Rajini *et al.* 2020). Цаашид үүссэн ИЦХ-ийн хэмжээг спектрофотометрт 540 нм-т шингээлтийн утгыг хэмжин урьдчилан байгуулсан жиших муруйнаас ИЦХ-ийн хэмжээг бодож гаргана. Жиших муруйг ургамлын үндэс үүсгэхэд ашигладаг индол цууны хүчлийг (Sigma) 100мкг, 10мкг, 1мкг, 0.1мкг, 0.01мкг концентрацитай бэлдэж, 530нм-т шингээлтийг утгыг хэмжин байгуулсан.

2.5.2. Гиббериллиний хүчил (ГХ) тодорхойлох

Мөөгөнцрийн өсгөврийг шингэн тэжээлт орчин (PDB)-д тасалгааны температурт 100эрг/мин 7 хоног урьдчилан өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөлтийн дараа мөөгөнцрийн мицеллийг ариун фильтрийн цаас ашиглан өсгөврийн шингэнээс

салгана. 100 мл-ийн ялгах юүлүүрт 20 мл өсгөврийн шингэн болон 10 мл ариутгасан нэрсэн ус хийж 0.1M HCl ашиглан pH=2 болтол хүчиллэгжүүлнэ. Хүчиллэг үүсмалыг 2 удаа 20 мл этил ацетатаар 60 сек турш хүчтэй сэгсэрч органик фазыг ялган авна. Органик фазаудыг нийлүүлж 20, 15, 10 мл (pH=7.4) фосфатын буферээр тус бүр 60 сек турш хүчтэй сэгсэрч буферийн шингэн фазыг тосч авна. 1 мл дээж (фосфатын буферт уусгасан)-ийг 1 мл абсолют этанолтой хольж 10 мл хүртэл 3.75M HCl нэмээд 10 сек турш хүчтэй сэгсэрээд 254нм-т шингээлтийн утгыг хэмжинэ. Шингээлтийн утгыг GA-ийн стандарттай харьцуулж концентрацийг тооцно (Berrios *et al.* 2020).

2.5.3. Фосфат ба цайр уусгах чадвар

0.2%-ийн лецитинтэй пииковская (PKV: глюкоз 10г/л, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 2.5г/л, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5г/л, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1г/л, NaCl 0.2г/л, KCl 0.2г/л, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.003г/л, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.003г/л, дрожжын ханд 0.5г/л, агар 18г/л) тэжээлт орчинд урьдчилан өсгөвөрлөсөн эндофит бичил биетний өсгөврийг (блокийн хэмжээ 6мм) зүсч тавин 28°C-д 5-7 хоног өсгөвөрлөнө. Колонийн эргэн тойронд үүссэн тунгалаг хүрээг хэмжиж фосфат уусгах чадварыг тодорхойлно (Vyasa *et al.*, 2007).

Цайр уусгалтыг 0.1%-ийн ZnO –той минерал агар ашиглан дээрхийн адил колонийн эргэн тойронд үүссэн тунгалаг хүрээний хэмжээгээр тодорхойлно (Senthil Kumar *et al.*, 2007).

2.6. Мөөгөнцрийн өсгөврийн ханд бэлтгэх

Мөөгөнцрийг PDB тэжээлт орчинд 25-30 хоног өсгөвөрлөсний дараа мөөгөнцрийн мицеллийг шүүлтийн цаасаар шүүж, тус бүр 100 мл этилацетатаар 3 удаа 120 эргэлт/мин-аар 1 цагийн турш зөөлөн зайлж хандална. Харин өсгөврийн шингэнийг тус бүр 200 мл этилацетатаар 3-4 удаа 120 эргэлт/мин-аар 10 мин зөөлөн зайлж хандална. Ханд бүрийг тохирох ялгах юүлүүрт хийж этилацетатын хандыг ялгана. Ялгасан ханд бүрийг вакуум нэрэгчээр 40°C-д нэрж өтгөрүүлэн, өтгөн хандыг этилацетатад бүрэн уусган (1 мл этилацетатаар 3 удаа уусгах) жинг нь тэмдэглэсэн шилэнд шилжүүлж татах шүүгээнд тавина. Ханд бүрийн этилацетат уусгагчийг бүрэн ууршсаны (2-3 хоног) дараа мөөгөнцрийн

хандны (МХ) жинг тэмдэглэнэ. Мицеллийн ханд ба өсгөврийн шингэний ханд бэлэн болно. Ханд бүрийн чанарын шинжилгээг нимгэн үеийн хроматграфийн (НҮХ) аргаар силикагель F₂₅₄ ялтас дээр дусааж, хлороформ : метанол - 10:1 уусгагчийн систем ашиглан хийнэ. Хроматограмыг хэт ягаан туяаны (ХЯТ) 254 нм-ийн гэрэлд шалган илэрсэн толбонуудыг (нил ягаан, бараан) тэмдэглээд 5 %-ийн H₂SO₄-ийн спиртэн уусмалаар жигд үйлчлээд, 100°-110°С-д халаана.

2.6.1. Мөөгөнцрийн бодис нийлэгжлийн хугацаа тодорхойлох

Урьдчилан PDA орчинд өсгөвөрлөсөн мөөгөнцрийн өсгөврөөс 6 мм голчтой 10 блок зүсч аван PDB тэжээлт орчинд тарьж, 120 эргэлт/мин-тай, тасалгааны хэмтэй сэгсрэгчид байрлуулан 14, 21, 30 хоног тус тус өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөлтийн дараа мөөгөнцрийн мицеллийг шүүлтийн цаасаар шүүж, тус бүр 100 мл этилацетатаар 3 удаа 120 эргэлт/мин-аар 1 цагийн турш зөөлөн зайлж хандална. Хандыг тохирох ялгах юүлүүрт хийж ялгана. Ялгасан хандыг вакуум нэрэгчээр 40°С-д нэрж өтгөрүүлэн, өтгөн хандыг этилацетатад бүрэн уусган (1 мл этилацетатаар 3 удаа уусгах) жинг нь тэмдэглэсэн шилэнд шилжүүлж татах шүүгээнд тавина. Уусгагчийг бүрэн ууршсаны дараа хандны жинг авна. Бэлтгэсэн мицеллийн хандны чанарын шинжилгээг дээрх протоколын дагуу хийнэ.

2.6.2. Мөөгөнцрийн ханднаас бодис ялгах

Мөөгөнцрийн өтгөн хандыг 5-10 мг/мл концентрацтайгаар этилацетатад уусган бэлтгэж, 12 x 5см хэмжээтэй нимгэн үеийн ялтсанд жигд шингээж, хлороформ : метанол - 10:1 уусгагчийн системд хроматографи явуулна. Ялтсыг ХЯТ-ны 254нм-ийн гэрэлд шалган илэрсэн толбонуудыг тэмдэглээд, толбо бүрийг ялтаснаас хусаж авна. Бэлтгэсэн нэг хандыг 2-5-н ялтсанд шингээж хроматографи явуулна. Хусаж авсан бодис (силикагель дэх) бүрийг жинг нь авсан түбэнд цуглуулан дээр нь 1 мл этилацетат нэмж сэгсрэгч (вортекс) дээр сайтар сэгсрэн уусгах ба ууссан бодис ба силикагелийг центрифугээр салгана. Уусгагчид ууссан бодис бүрийн уусмалыг жинг нь тэмдэглэсэн шилэнд пипеткээр шилжүүлнэ. Энэ ажиллагааг бодис бүрт 3 удаа хийнэ. Ялгасан бодис бүрийн чанарын шинжилгээг дээрх протоколын дагуу хийнэ.

3. ТӨСЛИЙН ҮР ДҮН, ХЭЛЭЛЦҮҮЛЭГ

3.1. Монгол орны устаж буй, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй эмийн ургамлуудаас эндофит бактери, мөөгөнцрийн өсгөвөр ялган авч, тэдгээрийг молекул маркер ашиглан тодорхойлж, *ex-situ* хамгаалах;

3.1.1. Эндофит бичил биетний цэвэр өсгөвөр ялгах

Эндофит бичил биетэн ялгах арга зүйн дагуу бэлдсэн ургамлын дээжийг мөөгөнцөр, дрожж, бактери, актиномицет ялгах тус тусын хатуу тэжээлийн орчинд тохирох хэмд 3-21 хоног өсгөвөрлөн эндофит бичил биетний өсгөврийг ялган авав (Зураг 7, Хүснэгт 4).



Зураг 7. Эндофит бичил биетэн ялгах явцаас.

Эндофит бичил биетэн ялган авсан үр дүн

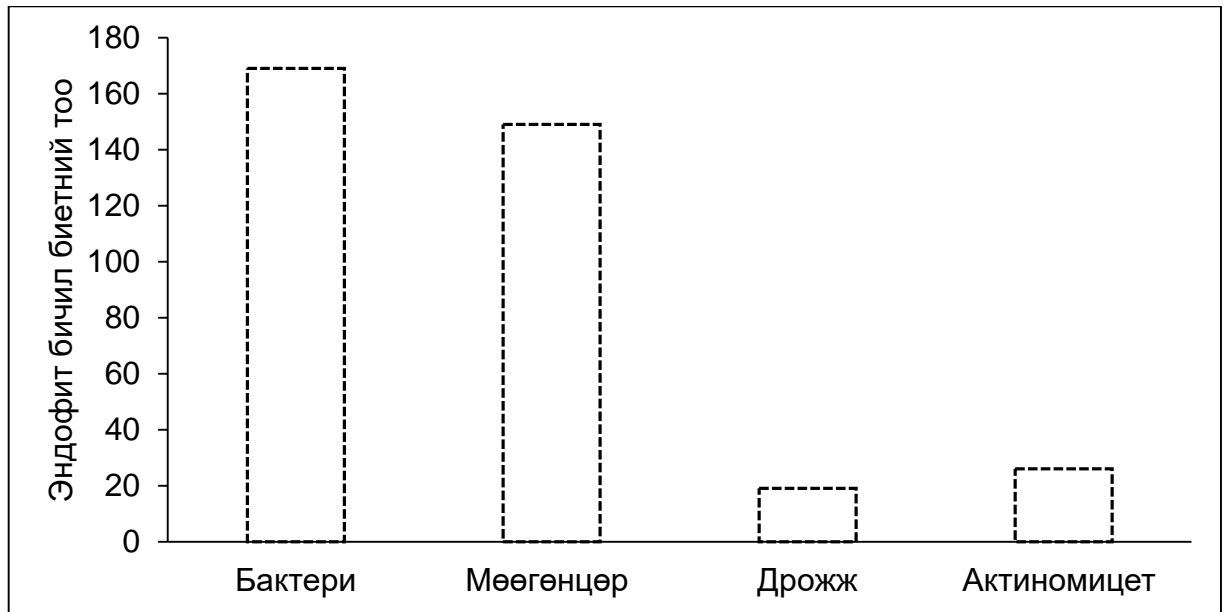
Хүснэгт 4.

| Дээжний дугаар | Ургамлын эрхтэн | Ялган авсан эндофит бичил биетний тоо | | | | |
|----------------|-------------------|---------------------------------------|-----------|-------|-------------|------|
| | | Бактери | Мөөгөнцөр | Дрожж | Актиномицет | Нийт |
| P20 | Үндэс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Иш | 1 | 3 | 0 | 0 | 4 |
| | Цэцэг | 4 | 0 | 0 | 0 | 4 |
| | Навч | 3 | 2 | 0 | 0 | 5 |
| P23 | Үндэс | 9 | 5 | 0 | 1 | 15 |
| | Иш | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| P26 | Газрын дээд хэсэг | 5 | 3 | 0 | 0 | 8 |
| | Газрын доод хэсэг | 3 | 4 | 0 | 0 | 7 |
| | Шинэ зангилаа | 5 | 8 | 0 | 0 | 14 |
| | Хуучин зангилаа | 1 | 9 | 0 | 0 | 10 |
| P27 | Үндэс | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | Иш | 1 | 5 | 0 | 0 | 6 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 2 | 1 | 1 | 0 | 4 |
| P31 | Үндэс | 2 | 5 | 1 | 0 | 8 |
| | Иш | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Цэцэг | 2 | 6 | 0 | 0 | 8 |
| | Навч | 1 | 4 | 0 | 0 | 5 |
| P32 | Үндэс | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | Иш | 0 | 3 | 1 | 1 | 5 |
| | Цэцэг | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 |
| | Навч | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 |
| P33 | Үндэс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Иш | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| P35 | Үндэс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Иш | 2 | 0 | 1 | 1 | 4 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |

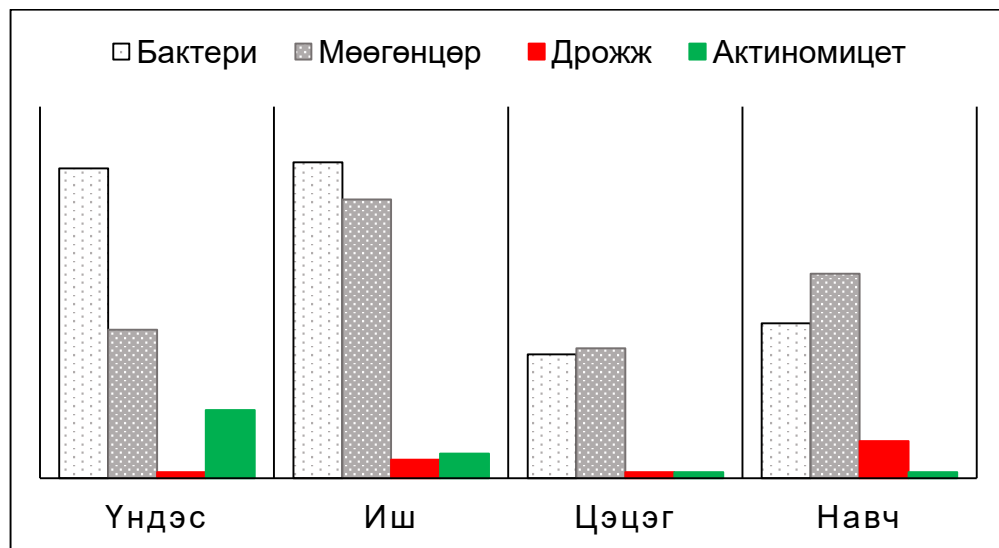
Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

| | | | | | | |
|---------------------------|-------|------------|------------|-----------|-----------|----|
| P36 | Үндэс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Иш | 4 | 1 | 0 | 1 | 6 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 4 | 2 | 4 | 0 | 10 |
| P37 | Үндэс | 9 | 5 | 0 | 0 | 14 |
| | Иш | 3 | 3 | 0 | 0 | 6 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 2 | 2 | 0 | 0 | 4 |
| P38 | Үндэс | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Иш | 5 | 3 | 2 | 0 | 10 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 5 | 5 | 0 | 0 | 10 |
| P1 | Үндэс | 5 | 5 | 0 | 2 | 12 |
| | Иш | 5 | 9 | 0 | 0 | 14 |
| | Цэцэг | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 |
| | Навч | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| P2 | Үндэс | 10 | 1 | 0 | 1 | 12 |
| | Иш | 11 | 3 | 0 | 0 | 14 |
| | Цэцэг | 9 | 5 | 0 | 0 | 14 |
| | Навч | 2 | 6 | 0 | 1 | 9 |
| P3 | Үндэс | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | Иш | 4 | 4 | 2 | 0 | 10 |
| | Цэцэг | 0 | 5 | 1 | 0 | 6 |
| | Навч | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| P5 | Үндэс | 5 | 0 | 0 | 1 | 6 |
| | Иш | 2 | 1 | 0 | 1 | 4 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| P6 | Үндэс | 3 | 2 | 0 | 2 | 7 |
| | Ризом | 3 | 0 | 5 | 6 | 14 |
| | Иш | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| P8 | Үндэс | 6 | 1 | 0 | 0 | 7 |
| | Иш | 4 | 4 | 1 | 1 | 10 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Навч | 3 | 3 | 0 | 0 | 6 |
| P9 | Үндэс | 2 | 2 | 0 | 4 | 8 |
| | Иш | 6 | 6 | 0 | 0 | 12 |
| | Цэцэг | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| | Навч | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Нийт өсгөврийн тоо | | 169 | 149 | 16 | 24 | |

18 ургамлын үндэс, иш, цэцэг, навч зэрэг эрхтэнүүдээс нийт 358 эндофит бичил биетний өсгөвөр ялган авсан.

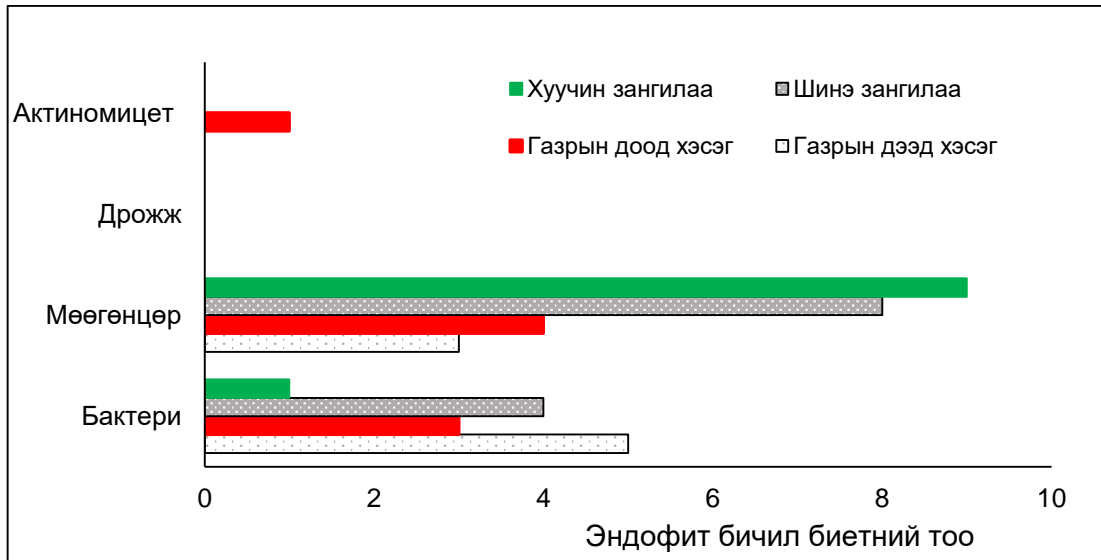


Диаграмм 1. Эндофит бичил биетний тоо



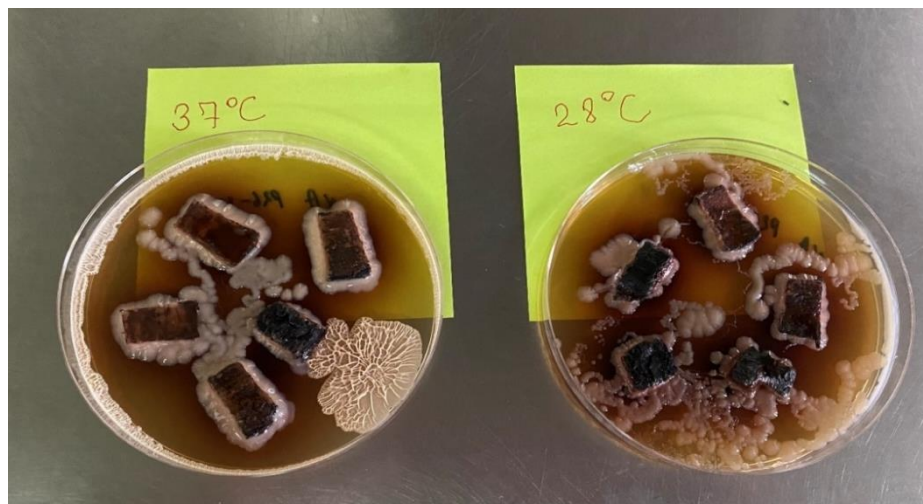
Диаграмм 2. Ургамлын үндэс, иш, цэцэг, навч зэрэг эрхтэнээс ялган авсан эндофит бичил биетний тоо

Эндофит бактери, актиномицет нь үндэс болон ишинд илүү их агуулагдаж байсан бол эндофит мөөгөнцөр, дрожж нь иш болон навчинд илүү их агуулагдаж байсан. Ишинд агуулагдах нийт эндофит бичил биетний тоо бусад эрхтэнтэй харьцуулахад их байв.



Диаграмм 3. Зүүнгарын гоёо (*Synotrium songaricum*)-ноос ялгасан эндофит бичил биетний тоо ургамлын хэсэг тус бүрээр

Зүүнгарын гоёо бусад ургамалтай харьцуулахад хамгийн их эндофит бичил биетэн агуулж байсан буюу мөөгөнцрийн 24, бактерийн 14, актиномицетийн 1 нийт 38 өсгөвөр ялгав. Улаан гоёоны хуучин болон шинэ зангилаанаас мөөгөнцрийн 17, бактерийн 5 өсгөвөр ялган авсан байна. Харин газрын дээд болон доод хэсгээс бактерийн 8, мөөгөнцрийн 7, актиномицетийн 1 өсгөвөр ялган авсан. Судалгаанд ашигласан хэсгээр нь харьцуулахад хуучин болон шинэ зангилаа нь мөөгөнцрийн хувьд өсөж үржихэд илүү таатай орчин болж байгаа бол, бактери, актиномицетийн хувьд газрын дээд хэсэг нь болж байна.

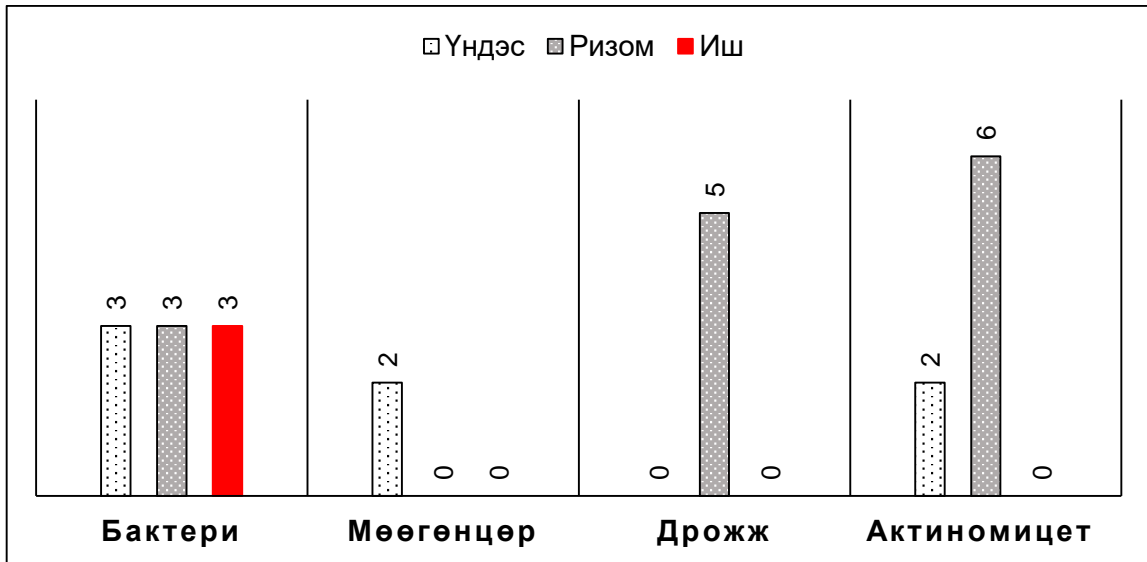


Зураг 8. Зүүнгарын гоёо (*Synotrium songaricum*)-ны дээжнээс эндофит бактери ургаж буй нь



Зураг 9. Зүүнгарын гоёо (*Synotorium songaricum*)-ны дээжнээс ялгасан эндофит мөөгөнцрүүд түүний дотор эзэн ургамалтайгаа ижил хүрэн пигмент нийлэгжүүлэгч мөөгөнцрүүд

Зүүнгарын гоёоны махлаг ишинд эдээлгийн бодис 18%, глюкоз, фруктоз, сахарозоос тогтосон нүүрс-ус 8-13%, цардуул, пектин, протопектин, гемицеллюлозоос тогтсон полисахарид 3.77-2.96%, хуурай бодист ноогдох сахарын хэмжээ 26.7-34.4% хүрдэг байна. Түүнийг манай уламжлалт анагаах ухаанд биж, элэг цэсний өвчин, шарлахуй, цусны даралт ихсэхүй, гэдэсний гулгамтгай чанарыг нэмэгдүүлэх, элэг, цэсний ажиллагаа хямрах, шарлахуй, бөөрний үрэвслээс болж нуруу өвдөх, шээс дусагнах, шижин, ходоодны шар, бэлгэс сулрах, дусал алдах, мэдрэл муудах, өтгөн хатах үед анагаах зорилгоор хэрэглэдэг (Лигаа ба бусад, 2006). Гадаадын судлаачдын судалгааны олон бүтээлийн дотор түүний хоёрдогч метаболит нь эндофит мөөгөнцөртэй харилцан хамааралтайг тогтоосон судалгааны өгүүлэл онцгой анхаарал татаж байгаа билээ (Cui *et al.*, 2019). Бид гоёоноос эзэн ургамалтайгаа ижил өнгийн пигмент нийлэгжүүлдэг мөөгөнцрийн өсгөврүүд ялгасан (Зураг 9) төдийгүй экспополисахарид нийлэгжүүлдэг (Зүүнгарын гоёоны гол үйлчлэгч бодисуудын нэг нь полисахаридууд) бактерийн өсгөврүүд ялгасан нь цаашдын судалгааны чухал материал болж байна.



Диаграмм 4. Эгэл годил (*Acorus calamus*)-оос ялгасан эндофит бичил биетний тоо ургамлын хэсэг тус бүрээр

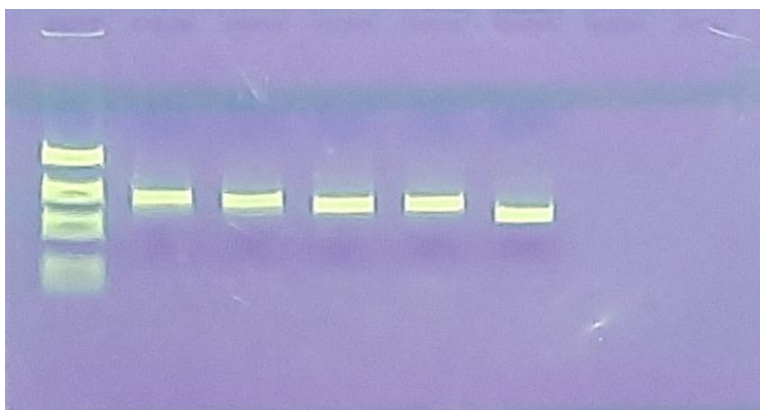
Судалгаанд ашигласан бусад бүх ургамлаас бактери, мөөгөнцрийн өсгөвөр эрс давамгайл тоогоор ялгагдаж байсан бол Эгэл годилд дрожж, актиномицетийн өсгөвөр илүү байсан нь өвөрмөц үр дүн байв. Түүний дотор ризомд дрожж, актиномицет их байхын сацуу ризомд мөөгөнцөр илрээгүй. Түүнчлэн, энэ судалгааны ажлын үр дүнд актиномицетийн нийт 24 өсгөврийг 10 ургамлаас ялгасны дотор 6-г нь, дрожжийн нийт 16 өсгөврийн 5-г нь Эгэл годилын ризомоос ялган авсан байна.

3.1.2. Бичил биетний өсгөврүүдийг молекул маркер ашиглан тодорхойлж, ex-situ хамгаалах

Ургамлын өсөлт дэмжих болон микробын эсрэг идэвхтэй мөөгөнцөр, бактери, актиномицет болон дрожжийн өсгөврүүдийг сонгон авч молекул маркер ашиглан ангилалзүйн хамаарлыг тодорхойлсон.

Мөөгөнцөр, дрожжийн цэвэр өсгөврүүдээс ДНХ ялгаж, ITS хэсэг болон 28S рРНХ генийн D1/D2 домейныг хамтад нь ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG3-'), NL4 (5'-GGTCCGTGTTTCAAGACGG-3'), хос праймер ашиглан ПГУ хийж олшруулав. Бактери актиномицетын геномын ДНХ-г "Bacterial DNA Extraction Kit" цомог ашиглан зааврын дагуу ялган, 16S рРНХ генийг 9F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') болон 1541R (5'-

AAGGAGGTGATCCAGCC-3') хос праймер ашиглаж ПГУ-ын аргаар олшруулсан. "Agarose gel DNA extraction Kit" цомгийг ашиглан цэвэршүүлж, ZanaaSpex ХХК болон БНСУ-ын "Humanizing Genomics Macrogen Inc" байгууллага руу илгээн нуклеотидын дараалалыг тогтоолгосон. 16S рРНХ генийн нуклеотидын дараалалаар хамгийн ойр төрөл зүйлийг <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>, <https://www.ezbiocloud.net> сайтын мэдээлэлийн сангаас хайлт хийн ангилал зүйн хамаарлыг нь тогтоосон.



Зураг 10. Дрожжийн ITS хэсэг болон 28S рРНХ генийн D1/D2 домейны ПГУ бүтээгдэхүүнийг 1% агароз гелд гүйлгэж шалгасан жишээ

Эндофит бичил биетнийг молекул маркер ашиглан ангилалзүйн хамааралыг тодорхойлсон дүн

Хүснэгт 5.

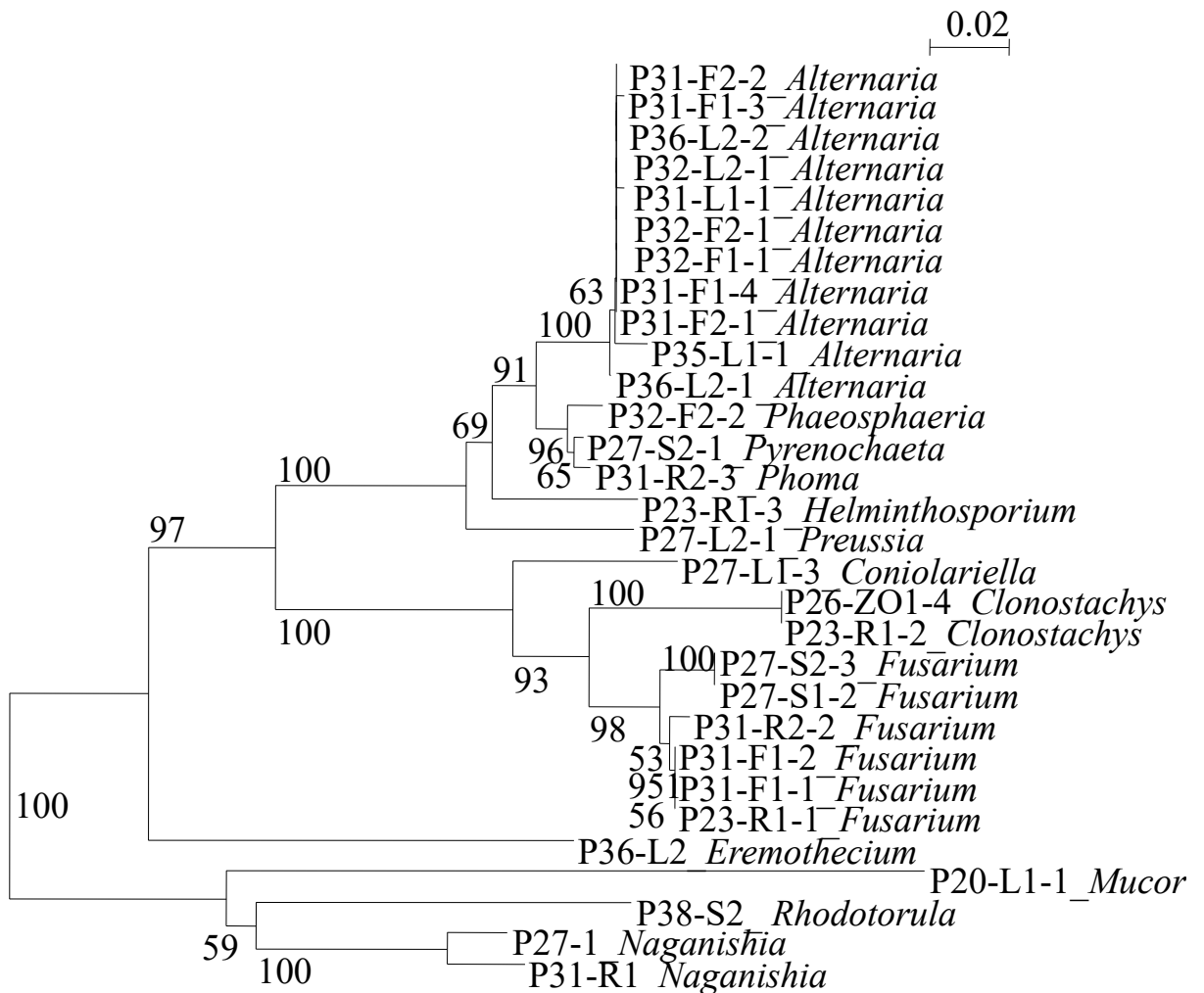
| Дээж ургамал | Өсгөврийн дугаар | Хамгийн ойр төрөл, зүйл | Төстэй хувь (%) |
|---|------------------|---------------------------------|-----------------|
| P20 | 21FP20-L1-1 | <i>Mucor hiemalis</i> | 96.2 |
| Нөмрөгт банздоо <i>Saussurea involucreta</i> | 21FP20-L2-1 | <i>Mucor hiemalis</i> | 99.7 |
| | 21FP20-S1-1 | <i>Fusarium avenaceum</i> | 99.4 |
| | 21FP20-S2-1 | <i>Mucor hiemalis</i> | 99.5 |
| | 21BP20-L2 | <i>Pseudomonas azotoformans</i> | 99.9 |
| | 21BP20-L3 | <i>Pseudomonas azotoformans</i> | 100 |
| | 21BP20-F1 | <i>Bacillus velezensis</i> | 99.8 |
| | 21BP20-F2 | <i>Bacillus velezensis</i> | 99.8 |
| | 21BP20-F4 | <i>Bacillus velezensis</i> | 99.9 |
| P23 | 21FP23-L2-1 | <i>Fungal endophyte</i> | 96.8 |

| | | | |
|--|---------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
| Урал чихэр өвс | 21FP23-L2-2 | <i>Fungal endophyte</i> | 95.1 |
| <i>Glycyrrhiza uralensis</i> | 21FP23-R1-1 | <i>Fusarium acuminatum</i> | 99.7 |
| | 21FP23-R1-2 | <i>Clonostachys rosea</i> | 99.8 |
| | 21FP23-R1-3 | <i>Helminthosporium quercinum</i> | 96.2 |
| | 21FP23-R2-1 | <i>Fusarium redolens</i> | 99.8 |
| | 21FP23-R2-4 | <i>Sarocladium kiliense</i> | 99.3 |
| | 21FP23-R2-5 | <i>Clonostachys rosea</i> | 99.9 |
| | 21BP23-R3 | <i>Peribacillus frigitolerans</i> | 100 |
| | 21BP23-R4 | <i>Terribacillus saccharophilus</i> | 99.3 |
| | 21BP23-R5 | <i>Terribacillus saccharophilus</i> | 100 |
| | 21BP23-R6 | <i>Bacillus halotolerans</i> | 100 |
| | 21BP23-R8 | <i>Pseudomonas argentinensis</i> | 100 |
| | 21BP23-R1-1 | <i>Paenibacillus terrae</i> | 99.0 |
| | 21BP23-S2-1 | <i>Bacillus halotolerans</i> | 100 |
| | P26 | 21FP26-H1-1 | <i>Fusarium equiseti</i> |
| Зүүнгарын гоёо <i>Synomorium songaricum</i> | 21FP26-H1-3 | <i>Clonostachys rosea</i> | 99.6 |
| | 21FP26-H2-1 | <i>Fusarium proliferatum</i> | 96.5 |
| | 21FP26-H2-2 | <i>Fusarium solani</i> | 100 |
| | 21FP26-R1-1 | <i>Fusarium equiseti</i> | 100 |
| | 21FP26-R1-3 | <i>Alternaria atra</i> | 99.6 |
| | 21FP26-R2-1 | <i>Fusarium solani</i> | 100 |
| | 21FP26-R2-2 | <i>Clonostachys rosea</i> | 99.3 |
| | 21FP26-ZN1-1 | <i>Penicillium griseofulvum</i> | 99.1 |
| | 21FP26-ZN1-2 | <i>Madurella fahalii</i> | 99.2 |
| | 21FP26-ZN1-3 | <i>Aspergillus amoenus</i> | 96.1 |
| | 21FP26-ZN2-2 | <i>Penicillium rubens</i> | 99.7 |
| | 21FP26-ZN2-3 | <i>Penicillium roseopurpureum</i> | 100 |
| | 21FP26-ZN2-4 | <i>Fusarium tonkinense</i> | 100 |
| | 21FP26-ZN2-5 | <i>Penicillium rubens</i> | 99.2 |
| | 21FP26-ZN2-6 | <i>Penicillium roseopurpureum</i> | 96.1 |
| | 21FP26-ZO1-1 | <i>Penicillium rubens</i> | 99.2 |
| | 21FP26-ZO1-3 | <i>Clonostachys rosea</i> | 98.8 |
| 21FP26-ZO1-4 | <i>Clonostachys rosea</i> | 99.8 | |

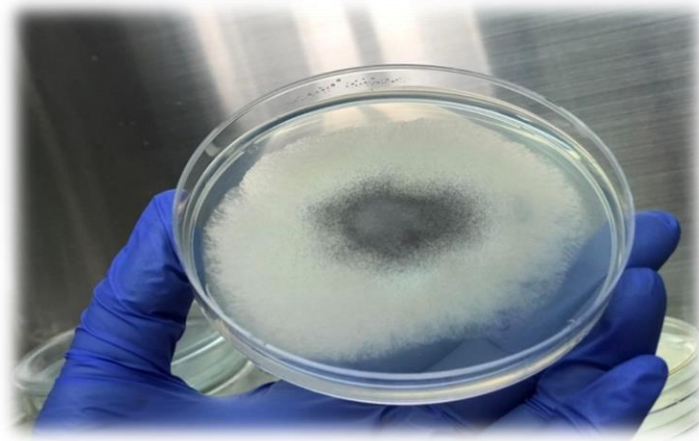
| | | | |
|--|--------------|-------------------------------------|------|
| | 21FP26-ZO1-5 | <i>Clonostachys rosea</i> | 100 |
| | 21FP26-ZO1-6 | <i>Fusarium tonkinense</i> | 98.7 |
| | 21FP26-ZO2-1 | <i>Fusarium proliferatum</i> | 100 |
| | 21FP26-ZO2-2 | <i>Clonostachys rosea</i> | 99.8 |
| | 21FP26-ZO2-3 | <i>Clonostachys rosea</i> | 100 |
| | 21BP26-H1 | <i>Klebsiella michiganensis</i> | 99.8 |
| | 21BP26-H5 | <i>Alcaligenes faecalis</i> | 100 |
| | 21BP26-R1 | <i>Serratia ficaria</i> | 99.6 |
| | 21BP26-ZN4 | <i>Peribacillus frigiditolerans</i> | 100 |
| | 21BP26-ZO1 | <i>Pseudomonas argentinensis</i> | 99.9 |
| | 21BP26-ZN2-1 | <i>Bacillus atrophaeus</i> | 100 |
| | 21AP26-R2-1 | <i>Streptomyces pactum</i> | 99.6 |
| P27 Пржевальскийн зээргэнэ (хонин зээргэнэ) <i>Ephedra Przewalskii</i> Stapf | 21FP27-L1-3 | <i>Coniolaria sp</i> | 97.3 |
| | 21FP27-L2-1 | <i>Preussia lignicola</i> | 99.9 |
| | 21FP27-S1-2 | <i>Fusarium oxysporum</i> | 99.8 |
| | 21FP27-S2-1 | <i>Pyrenochaeta nobilis</i> | 95.5 |
| | 21FP27-S2-3 | <i>Fusarium oxysporum</i> | 99.4 |
| | 21FP27-S2-5 | <i>Fusarium oxysporum</i> | 99.9 |
| | 21BP27-R1 | <i>Bacillus mojavenis</i> | 99.9 |
| | 21BP27-L3 | <i>Peribacillus frigiditolerans</i> | 99.8 |
| | 21BP27-S2-1 | <i>Bacillus mojavenis</i> | 99.9 |
| | 21YP27-L1 | <i>Naganishia friedmannii</i> | 99.6 |
| P31 Төвд ланцай <i>Lancea tibetica</i> | 21FP31-F1-1 | <i>Fusarium tricinctum</i> | 99.1 |
| | 21FP31-F1-2 | <i>Fusarium acuminatum</i> | 99.7 |
| | 21FP31-F1-3 | <i>Alternaria solani</i> | 99.6 |
| | 21FP31-F1-4 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.7 |
| | 21FP31-F2-1 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.8 |
| | 21FP31-F2-2 | <i>Alternaria dauci</i> | 99.8 |
| | 21FP31-L1-1 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.8 |
| | 21FP31-R1-1 | <i>Phoma sp.</i> | 99.0 |
| | 21FP31-R2-2 | <i>Fusarium torulosum</i> | 99.8 |
| | 21FP31-R2-3 | <i>Phoma</i> | 99.6 |
| | 21BP31-F2 | <i>Bacillus thuringiensis</i> | 100 |

| | | | |
|---|-------------|---------------------------------------|------|
| | 21FP32-F1-1 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.7 |
| P32 | 21FP32-F2-1 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.8 |
| Ягаан цээнэ | 21FP32-F2-2 | <i>Phaeosphaeria</i> | 99.8 |
| <i>Paeonia anomala</i> L. | 21FP32-L2-1 | <i>Alternaria tenuissima</i> | 99.5 |
| | 21FP32-R2-1 | uncultured <i>Helotiales</i> | 96.4 |
| | 21BP32-R2 | <i>Acinetobacter lwoffii</i> | 98.0 |
| P35 | 21FP35-L1-1 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.7 |
| Эгэл өмхий өвс | 21BP35-S2 | <i>Paenibacillus taichungensis</i> | 99.6 |
| <i>Peganum harmala</i> L. | 21AP35-S1-1 | <i>Saccharopolyspora karakumensis</i> | 99.8 |
| | 21FP36-L2-1 | <i>Alternaria alternata</i> | 99.4 |
| P36 | 21FP36-L2-2 | <i>Alternaria cumini</i> | 99.7 |
| Эгэл өмхий өвс | 21FP36-S2-1 | <i>Alternaria tenuissima</i> | 100 |
| <i>Peganum harmala</i> L. | 21FP36-S2-2 | <i>Didymella glomerata</i> | 100 |
| | 21YP36-L1-1 | <i>Eremothecium coryli</i> | 98.1 |
| | 21YP36-L2 | <i>Eremothecium coryli</i> | 98.5 |
| | 21YP36-L1 | <i>Eremothecium coryli</i> | 99.0 |
| P38 | | | |
| Үнэгэн сүүлхэй лидэр | 21YP38-S2 | <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> | 99.7 |
| <i>Sophora alopescuroides</i> L. | | | |
| P1 | 22BP1-F1-1 | <i>Bacillus halotolerans</i> | 99.8 |
| Монгол алтан хундгана | 22BP1-S1-1 | <i>Peribacillus frigitolerans</i> | 99.9 |
| <i>Adonis mongolica</i> | 22BP1-R5 | <i>Bacillus zhangzhouensis</i> | 99.8 |
| P5 | | | |
| Гурвалсан шүр үндэс | 22BP5-R1-4 | <i>Bacillus pumilus</i> | 99.8 |
| <i>Corallorhiza trifida</i> Chatel | | | |
| P6 | 22YP6-K1 | <i>Metschnikowia rancensis</i> | 92.4 |
| Эгэл годил | 22YP6-K1-1 | <i>Metschnikowia gelsemii</i> | 87.0 |
| <i>Acorus calamus</i> | 22YP6-K1-2 | <i>Pseudozyma aff. aphidis</i> | 99.8 |
| | 22YP6-K1-3 | <i>Meira miltonrushii</i> | 93.7 |
| | 22YP6-K1-5 | <i>Meira miltonrushii</i> | 99.3 |

Мөөгөнцрийн 62, дрожжийн 11 өсгөврийг 28S рРНХ генийн D1/D2 домейны нуклеотидын дараалалд тулгуурлан тодорхойлоход мөөгөнцрийн 14, дрожжийн 6 төрөлд хамаарагдаж байв. Мөөгөнцрийн 62 өсгөврөөс *Fusarium* төрөлд 17, *Alternaria* төрөлд 13, *Clonostachys* төрөлд 9, *Penicillium* төрөлд 4, *Mucor* төрөлд 3, *Phoma* төрөлд 2, *Didymella*, *Phaeosphaeria*, *Helminthosporium*, *Sarocladium*, *Madurella* төрлүүдэд тус тус 1,1 өсгөвөр хамаарагдаж, 8 өсгөвөр шинжлэх ухаанд шинэ зүйл байна. Зүүнгарын гоёоны хуучин зангилаа болон үндэснээс ялган авсан эзэн ургамалтайгаа ижил пигмент нийлэгжүүлдэг мөөгөнцрийн 7 өсгөвөр био-контроль болгон ашиглагддаг *Clonostachys* төрөлд хамаарагдаж байлаа. 28S рРНХ генийн D1/D2 домейны нуклеотидын дараалалд тулгуурлан филогенетик мод байгуулж мөөгөнцрийн өсгөврүүдийн төрлийн хамаарлыг харуулав (Зураг 11).



Зураг 11. 28S рРНХ генийн D1/D2 домейны нуклеотидын дараалалд тулгуурласан филогенетик мод



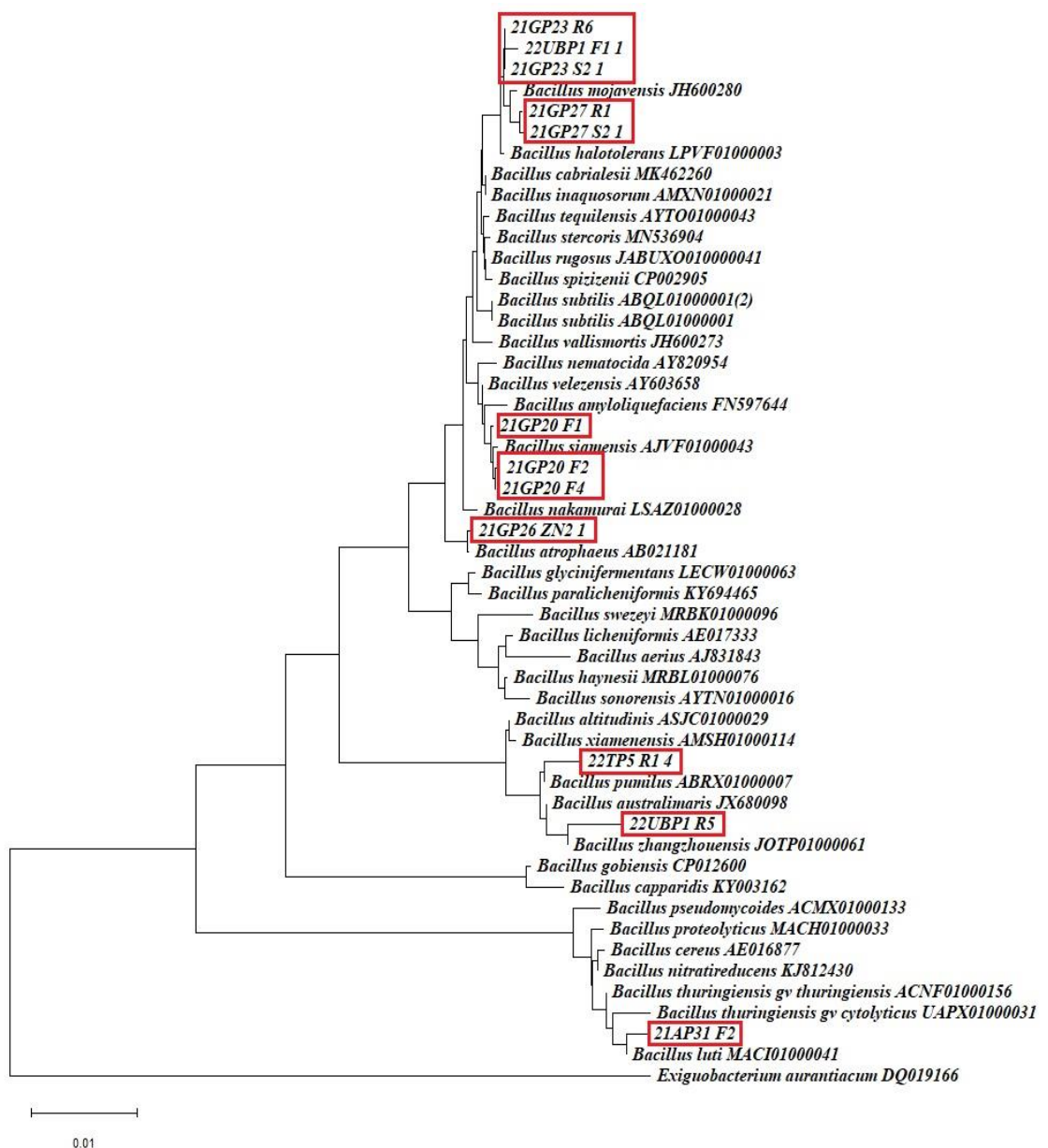
Зураг 12. Нөмрөгт банздооноос ялгасан *Mucor* төрөлд хамаарах 21GP20-L1-1 өсгөврийн хатуу тэжээлийн орчин дээрх колони

Нөмрөгт банздооноос ялгасан 21GP20-L1-1 өсгөвөр (Зураг 12) 28S рРНХ генийн D1/D2 домейны нуклеотидын дарааллаар Канадын арктикын бүсийн мөсөн голоос ялгасан *Mucor* төрлийн мөөгөнцөртэй хамгийн ойр байгаа маш сонирхолтой үр дүн байв. Энэхүү *Mucor* төрлийн мөөгөнцрүүд нь олон төрлийн фермент нийлэгжүүлдэгээрээ онцлог юм.

Дрожжийн 11 өсгөврөөс *Eremothecium* төрөлд 3, *Endophytic yeast-2*, *Meira* төрөлд 2, *Naganishia* төрөлд 2, *Pseudozyma* болон *Rhodotorula* төрөлд 1,1 өсгөвөр хамаарагдаж байна. Харин актиномицетийн 2 өсгөвөр нь *Saccharopolyspora* болон *Streptomyces* төрөлд хамаарагдаж байлаа.

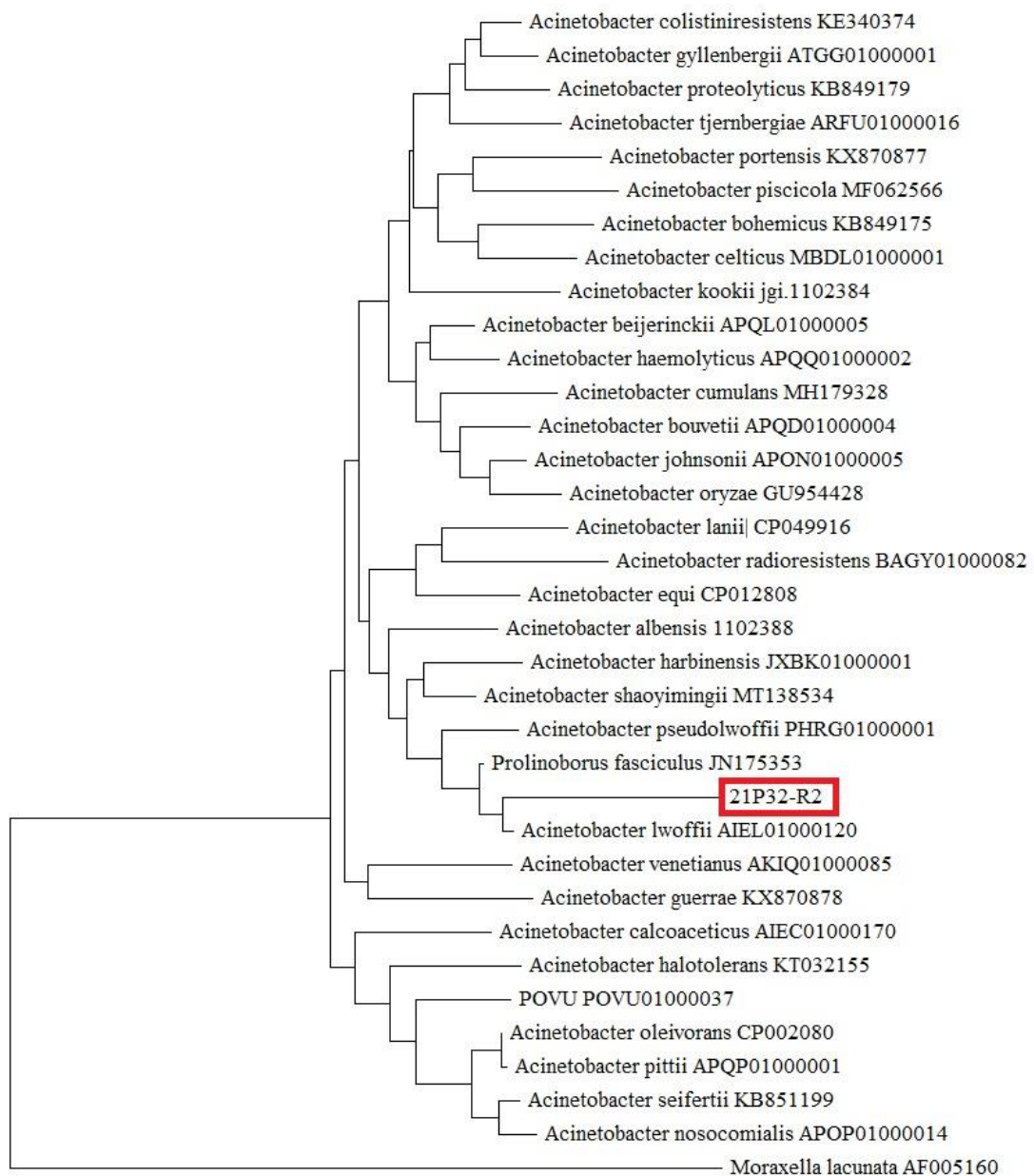
Бактерийн 28 өсгөвөр тодорхойлогдсоноос *Bacillus* төрөлд 12 өсгөвөр, *Pseudomonas* төрөлд 3 өсгөвөр, *Peribacillus* төрөлд 4 өсгөвөр, *Terribacillus* төрөлд 2 өсгөвөр, *Paenibacillus* төрөлд 2 өсгөвөр, үлдсэн 4 өсгөвөр нь *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Klebsiella*, *Serratia*, гэсэн өөр өөр төрлүүдэд хамаарагдаж байна. Гадаад хэвлэлийн тоймоос харахад ургамлын өсөлтийг эрчимжүүлэгч *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Brevibacterium*, *Arthrobacter*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, *Chryseobacterium* гэх мэт олон төрлийн эндофит бактериуд тэмдэглэгдсэн байдаг (Vandana et al., 2021). Египетийн цөлд ургадаг *Fagonoia mollis*, *Achillea fragrantissima* эмийн 2 ургамлаас эндофит бактерийн 13 өсгөвөр ялган авснаас 8 өсгөвөр *Bacillus*, 2 өсгөвөр *Paenibacillus*, 3 өсгөвөр *Brevibacillus* төрөлд хамаарагдаж байсныг тэмдэглэсэн байна (ALKahtani et al., 2020). Хятадын Шинжань аймгийн 3 өөр газраас цуглуулсан *Glycyrrhiza uralensis* Fisch (*licorice*) ургамлаас нийт 116 өсгөвөр ялган авч ангилал зүйн хамаарлыг нь

тогтооход 20 төрөл илэрсэн ба үүний 65% нь *Bacillus* төрлийн бактери эзэлж байсан байна (Li *et al.*, 2018). Тэгвэл бидний судалгааны ажлын явцад 8 ургамлаас ялган авсан 28 өсгөвөр нь 9 өөр төрөлд хамаарагдаж байсан ба Зүүнгарын гоёо буюу *Synotrium songaricum* ургамлаас ялган авсан 6 өсгөвөр нь ангилал зүйн хувьд 6 өөр төрөлд хамаарагдаж байгаа нь Монгол орны ховор болон нэн ховор ургамлуудын эндофит бактери нь илүү олон янз байж болохыг харуулж байна.



Зураг 13. *Bacillus* төрөлд хамаарагдаж буй өсгөврүүд

Bacillus subtilis төрлийн бактерийг био хяналт болгон өргөнөөр ашигладаг байна. Судлаачид эрдэнэ шишийг өвчлүүлдэг *Fusarium verticillioides* төрлийн мөөгөнцрийг дарангуйлах шинж чанар бүхий *Bacillus mojavensis* бактерийг олж илрүүлэн түүнийг эндофит бүлгийн био хяналт болох чадвартай тул био хяналт болгон ашигладаг *Bacillus subtilis* бактерийн бүлгээс тусгаар бүлэг болгон ангилсан байна (Васон *et al.*, 2012) Биохяналт болгон ашиглаж байгаа *Bacillus mojavensis* –тэй 99,1% ба 100% тус тус төстэй 2 өсгөврийг Пржевальскийн зээргэнэ (*Ephedra Przewalskii* Stapf) ургамлаас бид олж илрүүлээд байна.



Зураг 14. Ягаан цээнэ (*Paeonia anomala* L) -ээс ялган авсан 21TP32-R2 өсгөврийг ойролцоо зүйлийн өсгөврүүдтэй харьцуулсан филогенетик мод

Ягаан цээнэ (*Raeonia anomala* L.) -ээс ялган авсан 21TP32-R2 дугаартай өсгөврийн 16S рРНХ генийн нуклеотидын дараалал нь *Acinetobacter Iwoffii* -97,8% төстэй байсан ба удмын мод байгуулан уг өсгөврийн ангилалзүйн байршилыг тогтооход *Acinetobacter Iwoffii* зүйлтэй нэг төрөлд гэхдээ бие даасан шинэ зүйл болох нь харагдаж байна (Зураг 14) харагдаж байна. Мөн бактерийн *Klebsiella*, *Alcaligenes* төрлийг Монголд шинээр тэмдэглэв.

Энэхүү судалгааны үр дүнд тодорхойлсон эндофит бичил биетний 103 нуклеотидын дарааллыг дэлхийн генбанкинд бүртгүүлж, LC663160- LC663182, LC769412- LC769454, LC769456, LC769459-LC769494 албан ёсны дугаар авсан.

| | | | | | |
|--------------------------|---|--|-------|--------|-----------------|
| LOCUS | LC663160 | 1209 bp | DNA | linear | PLN 21-DEC-2021 |
| DEFINITION | Mucor hiemalis P20-L1-1 genes for 18S rRNA, ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, and 28S rRNA, partial and complete sequence. | | | | |
| ACCESSION | LC663160 | | | | |
| VERSION | LC663160.1 | | | | |
| KEYWORDS | . | | | | |
| SOURCE | Mucor hiemalis | | | | |
| ORGANISM | Mucor hiemalis | Eukaryota; Fungi; Fungi incertae sedis; Mucoromycota; Mucoromycotina; Mucoromycetes; Mucorales; Mucorineae; Mucoraceae; Mucor. | | | |
| REFERENCE | 1 | (bases 1 to 1209) | | | |
| AUTHORS | Enkh-Amgalan,J. | | | | |
| TITLE | Direct Submission | | | | |
| JOURNAL | Submitted (02-DEC-2021) to the DDBJ/EMBL/GenBank databases. Contact:Jigjiddorj Enkh-Amgalan Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences, Laboratory of Microbiology; Peace avenue 54b, Ulaanbaatar, Tuv 13330, Mongolia URL : https://biology.ac.mn/ | | | | |
| REFERENCE | 2 | | | | |
| AUTHORS | Enkh-Amgalan,J. and Amarbayasgalan,M. | | | | |
| TITLE | Diversity and biological activities of endophytic fungi isolated from rare, endangered and threatened medicinal plants of Mongolia | | | | |
| JOURNAL | Unpublished (2021) | | | | |
| COMMENT | | | | | |
| FEATURES | Location/Qualifiers | | | | |
| source | 1..1209 /country="Mongolia: Govi-Altai" /db_xref="taxon:64493" /isolation_source="Saussurea involucreta Kar. et Kir." /mol_type="genomic DNA" /organism="Mucor hiemalis" /strain="P20-L1-1" | | | | |
| misc_RNA | <1..>1209 /note="contains 18S ribosomal RNA, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA, internal transcribed spacer 2, and 28S ribosomal RNA" | | | | |
| BASE COUNT | 372 a | 202 c | 270 g | 365 t | |
| ORIGIN | 1 attaataatt tagatggcct ttgctagttt tctagcgaat ggttcattct tttttactgt 61 gaactgtttt aatttttcag cgtctgagga atgtctttta gccatagga taggctacta 121 gaatgttaac cgagctgaaa gtcaggctta ggccctggat cctattaatt atttaccaaa 181 agaattcagt attataattg taacataaagc gtaaaaaact tataaaacaa cttttaacaa 241 cggatctctt ggttctcgca tcgatgaaga acgtagcaaa gtgcgataac tagtgtgaaat 301 tgcataattca gtgaatcatc gagtctttga acgcaacttg cgctcaatgg tattccattg 361 agcacgcctg tttcagatc aaaaacaccc cacattcata attttgtgtg gaatggaaat 421 gagagtttcg gctttattgc tgaattcttt aaaattatta ggccctgaact attgttcttt 481 ctgcctgaac atttttttaa tataaaggaa tgctctagta aaaagactat ctctggggcc 541 tcccaataaa atcattctta aatttgatct gaaatcagc ggaattacc cctgaactta | | | | |

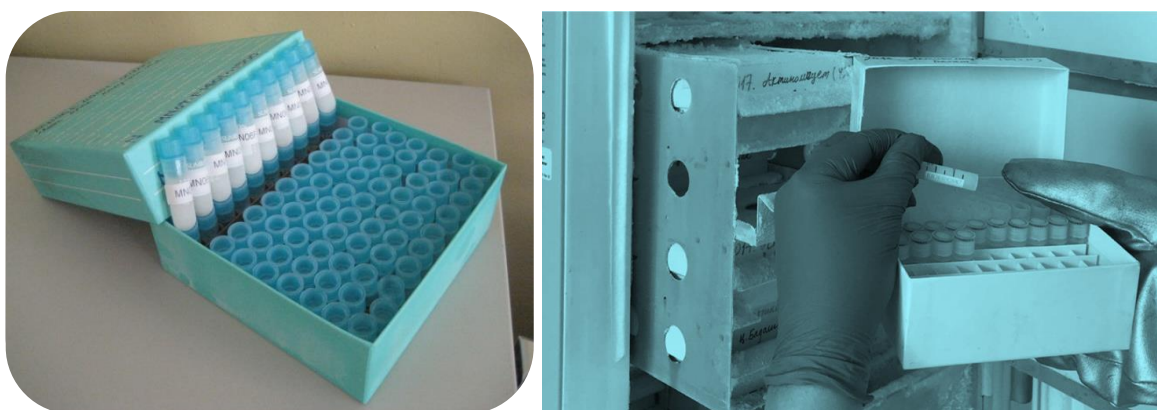
Зураг 15. Генбанкинд нуклеотидын дарааллын мэдээллийн харагдах байдал

3.2. Эндофит бичил биетний өсгөврийн болон мэдээллийн санг бүрдүүлж, мэдээллийг дэлхийн бичил биетний глобал каталогт байршуулах;

Төслийн хүрээнд ялгасан эндофит бичил биетний 358 цэвэр өсгөврийг зориулалтын шингэн бүхий тюбэнд -80°C хэмд гүн хөлдөөгчид хадгалж, өсгөврийн сан буюу биет материалын сан хөмрөг бүрдүүлсэн.



Зураг 16. Бичил биетний биет материалын жишээ буюу хатуу тэжээлийн орчин дээр мөөгөнцрийн цэвэр өсгөврийн колони ургасан байдал



Зураг 17. Бичил биетний эсийг гүн хөлдөөгчид хадгалсан байдал

Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

Тэдгээрийн ангилалзүй (дэлгэрэнгүй мэдээлэл тайлангийн 3.1.1-т), биологийн идэвхийн (дэлгэрэнгүй мэдээлэл тайлангийн 3.3. ба 3.4-т) мэдээллийн санг бүрдүүлсэн. Мэдээллийг дэлхийн бичил биетний мэдээллийн төв (ДББМТ)-ийн эрхэлдэг 52 орны 151 өсгөврийн санг нэгтгэсэн “Global Catalogue of Microorganisms (GCM)” буюу “Бичил биетний глобал каталог (ББГК)”-д байршуулсан.

The screenshot shows the GCM website interface. At the top, there is a navigation bar with 'GCM Global Catalogue of Microorganisms | WDCM NMDC' and a 'Login' button. Below this is a search bar with the text 'Please enter the keyword, Bacillus subtilis' and buttons for 'search', 'Advanced Search', 'Homology Search', and 'Species Info'. A statistics bar below the search bar shows: Culture Collections (151), Countries & regions (52), Species (51,661), Strains (529,439), Type Strains (24,134), Nucleotide (8,596,028), and Literatures (29,908). Below the statistics is a 'Culture Collections Distribution' chart showing data from 2012 to 2022. A modal window titled 'MNCCM' is open, displaying the following information:

| | |
|--|---|
| Acronym : MNCCM | Contact person : Dr. Enkh-Amgalan Jigjiddorj |
| Country : Mongolia | Email of Contact : enkhamgalanj@mas.ac.mn |
| WDCM Number : 1188 | Director : Dr. Enkh-Amgalan Jigjiddorj |
| Full Name : Mongolian National Culture Collection of Microorganisms | |

Below the modal window information, there are two tables showing the number of species and strains:

| Number of Species | | | |
|-------------------|-----------|---------|-------|
| Yeast | Bacterium | Archaea | Total |
| 2 | 32 | 4 | 38 |

| Number of Strains | | | |
|-------------------|-----------|---------|-------|
| Yeast | Bacterium | Archaea | Total |
| 2 | 77 | 21 | 100 |

At the bottom of the modal window, it says 'Online Homepage Updated'.

Зураг 18. Бичил биетний глобал каталогт манай өсгөврийн сангийн бичил биетний мэдээллийн харагдах байдал

Манай лабораторийн сан ДББМТ-д албан ёсны бүртгэлтэй бөгөөд ББГК-д өсгөврийн мэдээллийг байршуулснаар Монгол орны микробиологийн шинжлэх ухааны түвшинг сурталчлах, олон орны эрдэмтэдтэй хамтарсан бичил биетний генетик нөөцийн судалгааны эхлэл тавигдах, генетик нөөц эдийн засгийн эргэлтэд орох боломжтой.

3.3. Эндофит бичил биетний микробын эсрэг идэвх, ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар зэрэг биологийн идэвхийг нарийвчлан судлах;

3.3.1. Микробын эсрэг идэвх

Дээрх 18 ургамлын дээжнээс ялгасан эндофит бичил биетнүүдийн микробын эсрэг идэвхийг 5 тест организм *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* дээр туршиж, зөвхөн идэвх үзүүлсэн өсгөврүүдийн үр дүнг үзүүлэв (Хүснэгт 6).

Эндофит бичил биетний микробын эсрэг идэвх

Хүснэгт 6.

| Дээж ургамал | Өсгөврийн дугаар | Микробын эсрэг идэвх, мм (блок 6 мм) | | | | |
|---------------|------------------|---------------------------------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>C. albicans</i> | <i>A. niger</i> |
| P20 | 21FGP20-S1-1 | 15.5±0.7 | 14±1.4 | 22.5±0.7 | - | 25.5±0.7 |
| | 21BGP20-F1 | 9.71±0.7 | 9.0±1.4 | - | 15.0±0.7 | - |
| | 21BGP20-F2 | 6.5±0.7 | - | - | 17.0±0.7 | - |
| | 21BGP20-F4 | - | 10.0 | - | - | - |
| P23 | 21FGP23-R1-1 | - | 7±1.4 | - | 13.5±2.1 | - |
| | 21FGP23-R1-2 | - | 8.5±3.5 | 9±1.4 | - | 12.5±2.1 |
| | 21FGP23-R2-4 | - | - | - | - | 8.5±0.7 |
| | 21BGP23-R6 | - | - | - | 20.2±0.7 | - |
| P26 | 21FGP26-H1-1 | - | 12 | 15.5±0.7 | - | - |
| | 21FGP26-H2-1 | - | 13±1.4 | 11.5±0.7 | - | - |
| | 21FGP26-H2-2 | - | 10.5±0.7 | - | - | 23±2.8 |
| | 21FGP26R1-1 | - | 13.5±0.7 | 15.5±0.7 | - | - |
| | 21FGP26-R2-1 | - | - | - | - | 22.5±0.7 |
| | 21FGP26-ZN1-2 | 7.5±0.7 | 15.5±2.1 | 9.5±0.7 | - | - |
| | 21FGP26-ZN1-3 | - | 7 | 8±1.4 | - | - |
| 21FGP26-ZO1-2 | - | 18.5±0.7 | 12.5±0.7 | - | 13.5±0.7 | |

| | | | | | | |
|------------|---------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | 21FGP26-ZO1-3 | - | 18.5±0.7 | 15 | - | 13.5±2.1 |
| | 21FGP26-ZO1-4 | - | 9.5±0.7 | 9±4.2 | - | 12.5±0.7 |
| | 21FGP26-ZO1-5 | - | 16.5±0.7 | 13.5±0.7 | - | 14±1.4 |
| | 21FGP26-ZO1-6 | - | 17.5±0.7 | 11.5±0.7 | - | 12 |
| | 21FGP26-ZO2-2 | - | 15.5±2.1 | 12 | - | - |
| | 21FGP26-ZO2-3 | - | 16 | 13.5±0.7 | - | 13±1.4 |
| | 21BGP26-H5 | 18.0±0.7 | - | - | 10.51.4 | 20.2±0.7 |
| | 21BGP26-ZN4 | - | 9.0±0.7 | 13.0±0.7 | - | - |
| P27 | 21FGP27-L2-1 | - | 8 | 8 | - | - |
| | 21FGP27-S1-1 | - | - | - | - | 12.5±0.7 |
| | 21FGP27-S1-2 | - | - | - | - | 16.5±0.7 |
| | 21FGP27-S2-1 | - | - | - | - | 14.5±0.7 |
| | 21FGP27-S2-3 | - | - | - | - | 12.5±0.7 |
| | 21BGP27-R1 | - | - | 11.0±0.7 | 13.5±0.7 | - |
| P31 | 21FAP31-F1-2 | - | 8.5±0.7 | - | - | 13.5±0.7 |
| | 21FAP31-F1-3 | - | - | - | - | 13.5±2.1 |
| | 21FAP31-F2-1 | - | 8.5±0.7 | 8 | - | 13.5±0.7 |
| | 21FAP31-R2-1 | - | 12±1.4 | - | - | - |
| | 21FAP31-R2-2 | - | - | - | - | 8.5±3.5 |
| P32 | 21FTP32-F1-1 | - | 9.5±0.7 | - | - | 16.5±2.1 |
| | 21FTP32-F2-1 | - | - | - | - | 13.5±0.7 |
| | 21FTP32-L2-1 | - | 12.5±0.7 | 9.5±0.7 | - | 12.5±0.7 |
| | 21FTP32-S1-3 | - | - | 15.5±0.7 | - | - |
| | 21ATP32-S2-1 | 8.5±0 | 9±0 | - | - | 8±0 |
| P36 | 21FBHP36-L2-2 | - | 8.5±0.7 | - | - | - |
| | 21BBHP36-L1 | - | 10.64 | 12 | - | - |
| P1 | 22FUBP1-S2 | 28.5±0.7 | 18.5±2.1 | 26±2.8 | - | 15 |
| | 22FUBP1-S4 | - | 8.5±0.7 | 8 | 10 | 13.5±2.1 |
| | 22FUBP1-S8 | - | 9 | 8.5±0.7 | 11.5±0.7 | 16.5±2.1 |
| | 22FUBP1-S9 | 24±2.8 | 19±1.4 | 28.5±0.7 | - | - |
| | 22FUBP1-R1 | 22±1.4 | 17.5±0.7 | - | - | - |
| | 22BUBP1-F1-1 | - | 7±0.47 | 14±0.47 | - | - |
| | 22BUBP1-F5-3 | - | - | 10±0 | - | - |
| | 22BUBP1-S5-1 | - | - | 10±0.47 | - | - |
| | 22BTUBP1-R5-1 | - | 12±1.24 | 10±0 | 13±0.8 | - |
| | 22FTP2-F3 | - | - | - | - | 16±1.4 |
| 22FTP2-F5 | - | 14±1.4 | 13.5±2.1 | - | 22.5±2.1 | |
| 22FTP2-L5 | - | 12.5±0.7 | - | - | - | |

Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

| | | | | | | |
|-------------|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| P2 | 22FTP2-L6 | - | - | - | - | 24±1.4 |
| | 22FTP2-R1 | - | - | - | - | 13.5±0.7 |
| | 22BTP2-F1-1 | - | 8.5±0.5 | 13.5±0.5 | - | - |
| | 22BTP2-F3-3 | - | - | 9.5±0.5 | - | - |
| | 22BTP2-L1-2 | - | 10±0 | - | - | 14.5±0.5 |
| | 22BTP2-S1-1 | - | 9.5±0 | - | - | 11.5±0.5 |
| | 22BTP2-S1-2 | 9.5±0.5 | - | 10.5±0.5 | - | - |
| | 22BTP2-S2-1 | 9.5±0.5 | - | 10.5±0.5 | - | 9±0 |
| | 22BTP2-S3-2 | - | - | 14.±1 | - | 9.5±0.5 |
| | 22BTP2-S3-4 | - | - | 8.0±0 | - | - |
| | 22BTP2-R4-1 | 9.5±0.5 | - | - | - | - |
| | 22BTP2-R4-4 | 10±0 | - | 10±0 | - | - |
| | 22BTP2-R4-5 | - | - | 8.5±0.5 | - | - |
| | 22BTP2-R4-9 | - | - | 9.5±1.5 | - | - |
| | 22BTP2-R4-10 | - | - | 10±2 | - | - |
| | 22ATP2-R1 | - | 11±0 | 8±0 | - | 10±0 |
| 22ATP2-L2-1 | - | - | - | 10±0 | - | |
| P3 | 22FTP3-F1 | 26±1.4 | 24±1.4 | 30.5±0.7 | - | 19.5±0.7 |
| | 22FTP3-F3 | - | - | - | - | 14.5±0.7 |
| | 22FTP3-F5 | - | - | - | - | 12.5±0.7 |
| | 22BTP3-S1-5 | - | - | - | 9±0.94 | - |
| P5 | 22FTP5-S1 | 25±1.4 | 23±1.4 | 30.5±0.7 | - | 22.5±0.7 |
| | 22BTP5-R1-4 | - | 11±0.47 | 10±0.47 | - | - |
| | 22BTP5-F1-1 | - | - | - | 9±1.24 | - |
| P6 | 22FSP6-Ri1 | 22.5±2.1 | 25.5±2.1 | 26±4.2 | - | 29.5±0.7 |
| | 22BSP6-S1 | 15±0 | - | 11.5±0.5 | - | - |
| | 22BSP6-S3 | - | 11.5±0.5 | - | - | - |
| | 22BSP6-R1 | - | - | - | 9±1 | - |
| | 22BSP6-R2 | - | 8±0 | 8±0 | - | 20±0 |
| | 22BSP6-L1 | - | - | - | 19.5±0.5 | 25±0 |
| | 22BSP6-L3 | - | 10±0.5 | 16.5±0 | - | - |
| P8 | 22FKHP8-L1 | - | - | - | 11.5±0.7 | 17±1.4 |
| | 22FKHP8-S2 | - | - | - | 13±1.4 | 15.5±2.1 |
| | 22FKHP8-S4 | - | - | - | - | 10.5±0.7 |
| | 22FKHP8-R1 | - | - | - | 11 | 16±2.8 |
| | 22BKHP8-R2 | - | - | - | 8.5±0.5 | - |
| P9 | 22FUBP9-L1 | - | - | - | - | 11.5±0.7 |
| | 22FUBP9-L2 | - | - | - | - | 14.5±0.7 |

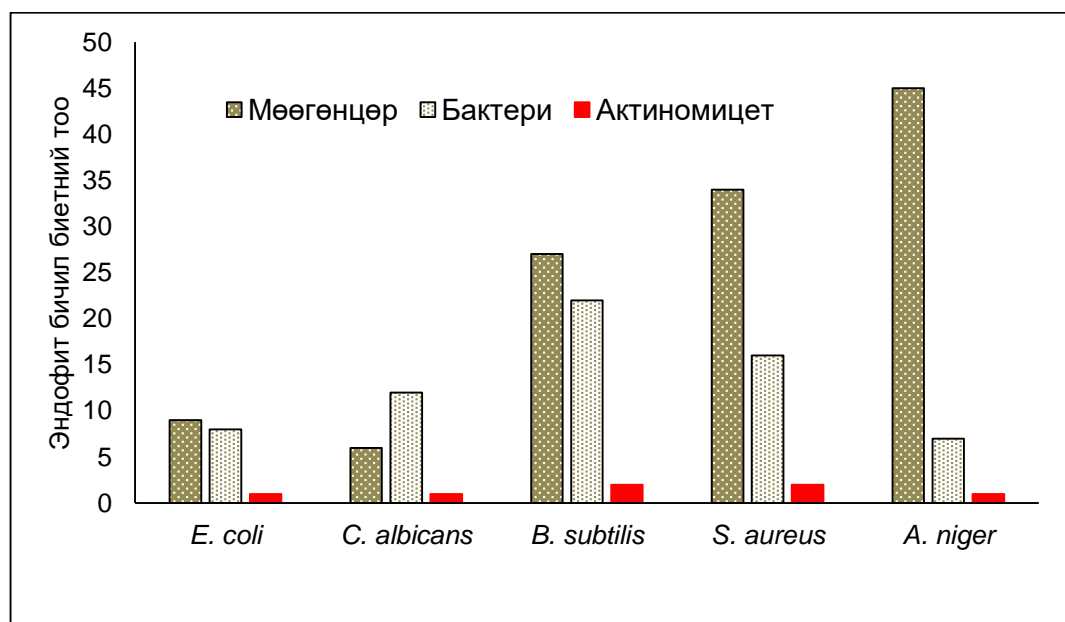
Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

| | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|---------|----------|
| 22FUBP9-S1 | - | - | - | - | 16.5±2.1 |
| 22FUBP9-S3 | - | - | - | - | 11±1.4 |
| 22FUBP9-S4 | - | - | - | - | 12 |
| 22FUBP9-S5 | 13.5±0.7 | 19.5±0.7 | 10.5±0.7 | - | - |
| 22FUBP9-R1 | - | - | - | - | 18.5±0.7 |
| 22BUBP9-R1 | - | 7.5±0.5 | - | - | - |
| 22BUBP9-R2 | - | - | - | 9.5±0.5 | - |
| 22BUBP9-S5 | - | - | 7±1 | - | - |
| 22BUBP9-S6 | - | 7±0.5 | - | - | - |
| 22AUBP9-R2-3 | - | 8±0.5 | 7±0.8 | - | - |

Тайлбар: (-)-идэвхгүй



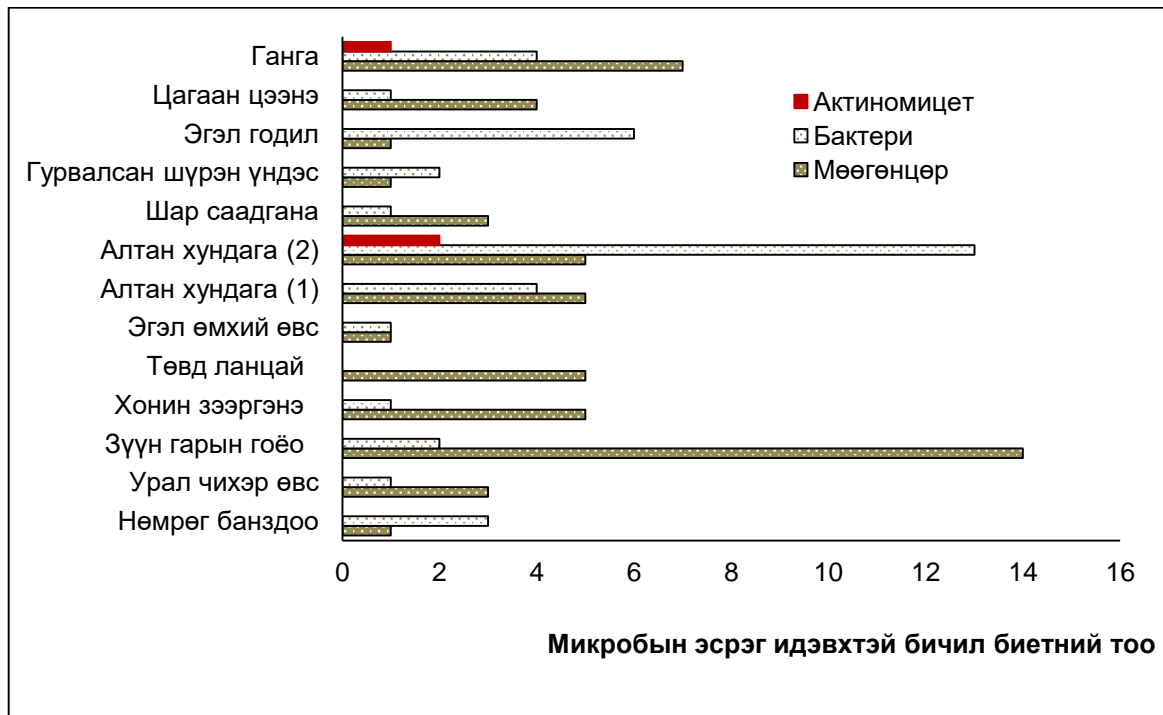
Зураг 19. Микробын эсрэг идэвх үзүүлсэн туршилтаас



Диаграмм 5. Микробын эсрэг идэвх

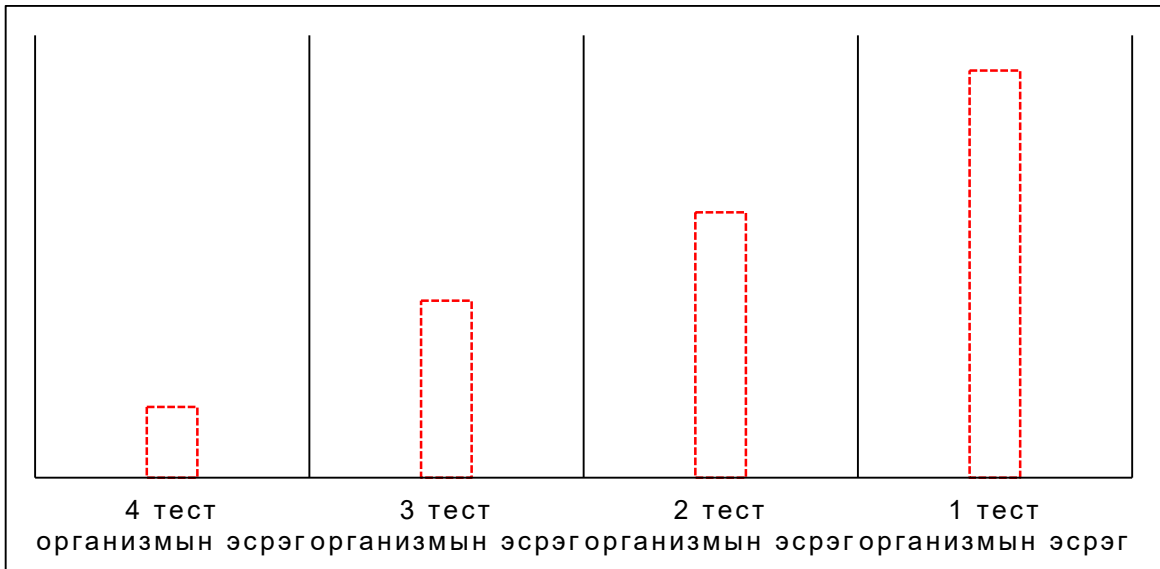
Гарсан үр дүнг нэгтгэн диаграммар харуулав (Диаграмм 5).

Микробын эсрэг идэвх тодорхойлсон туршилтын дүнгээс харахад *E. coli*-ийн эсрэг 18, *S. aureus*-ийн эсрэг 52, *B. subtilis*-ийн эсрэг 51, *C. albicans*-ийн эсрэг 19, *A. niger*-ийн эсрэг 53 өсгөвөр идэвхтэй байв. Мөн мөөгөнцрийн өсгөврүүд хамгийн их (58) идэвхтэй байсан.



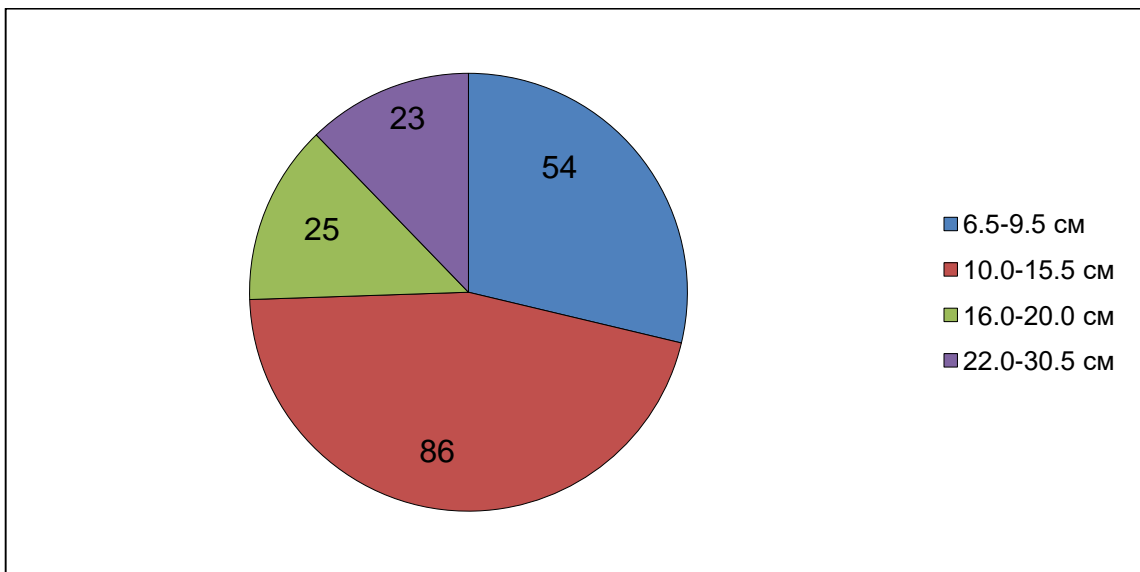
Диаграмм 6. Микробын эсрэг идэвх үзүүлсэн эндофит бичил биетэн

Эндофит бичил биетнүүдийг анх ялгаж авсан ургамлаар нь харьцуулан харахад 12 зүйлийн ургамлаас ялган авсан өсгөврүүд нь микробын эсрэг идэвхтэй байна. Үүнээс байгаль дээр ургаж байсан Монгол алтан хундганаас ялган авсан эндофит бактерийн өсгөврүүд нь бусад ургамалтай харьцуулахад хамгийн их микробын эсрэг идэвхтэй байв. Тухайлбал навчнаас ялгасан 1, цэцэгнээс ялгасан 2, үндэснээс ялгасан 4, ишнээс ялгасан 5 нийт 12 өсгөвөр идэвх үзүүлж байлаа. Харин Зүүнгарын гоёоны дээжнээс ялган авсан мөөгөнцрийн өсгөврүүд нь тухайлбал хуучин зангилаанаас ялган авсан 9 өсгөврөөс 7 өсгөвөр (21FGP26-ZO1-2, 21FGP26-ZO1-3, 21FGP26-ZO1-4, 21FGP26-ZO1-5, 21FGP26-ZO1-6, 21FGP26-ZO2-2, 21FGP26-ZO2-3) микробын эсрэг идэвхтэй байв.



Диagramм 7. Хэд, хэдэн тест организмын эсрэг идэвх үзүүлсэн

Нийт 5 тест организм туршин үзэхэд 1 тест организмын эрсэг 46 өсгөвөр, 2 тест организмын эсрэг 30 өсгөвөр, 3 тест организмын эсрэг 20 өсгөвөр, 4 тест организмын эсрэг 8 өсгөвөр тус тус идэвх үзүүлж байлаа. Зөвхөн мөөгөнцрийн өсгөврүүд нь 4 тест организмын эсрэг зэрэг идэвх үзүүлж байсан. 21FGP20-S1-1, 22FUBP1-S2, 22FTP3-F1, 22FTP5-S1, 22FSP6-Ri1 гэх мэт янз бүрийн ургамлаас ялган авсан өсгөврүүд байв.



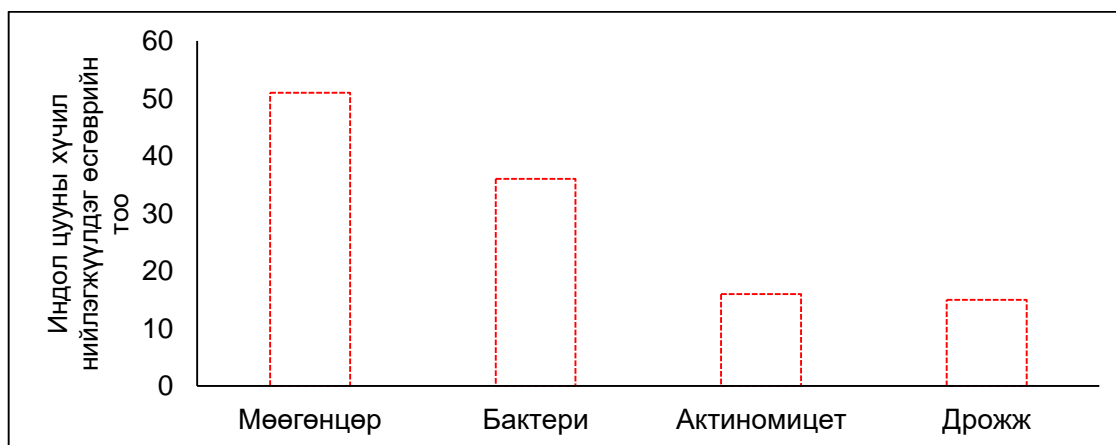
Диagramм 8. Микробын ургалтыг дарангуйлсан зоны хэмжээ

Микробын эсрэг идэвх үзүүлэхдээ үүсгэж буй зоны хэмжээгээр (см) нь ангилан үзэхэд 6,5-9,5 см-ийн зоныг нийт 54 өсгөвөр үзүүлж байсан. 25 өсгөвөр 16,0-20,0 см, 23 өсгөвөр 22,0-30,5 см-ийн зоныг үүсгэсэн бол 10,0-15,5 см-ийн зоныг хамгийн их буюу 86 өсгөвөр үүсгэж байлаа. Том хэмжээний хүрээг ихэнхдээ мөөгөнцрийн өсгөврүүд өгч байсан. Тухайлбал Гурвалсан шүрэн үндэс ургамлын ишнээс ялган авсан 22FTP5-S1 өсгөвөр нь *E. coli*-ийн эсрэг 25 см, *S. aureus*-ийн эсрэг 23 см, *B. subtilis*-ийн эсрэг 30,5 см, *A. niger*-ийн эсрэг 22,5 см-ийн хүрээ тус тус үүсгэж байлаа. Харин бактерийн өсгөврийн хувьд хамгийн өндөр хүрээг үүсгэсэн нь Зүүнгарын гоёоноос ялган авсан 21BGP26-H5 өсгөвөр нь *A. niger*-ийн 20,2 см байлаа.

3.3.2. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар

3.3.2.1. Индол цууны хүчил нийлэгжүүлэх чадварыг туршсан үр дүн

Эндофит бичил биетний индол цууны хүчил нийлгэгжүүлэх чадварыг өнгөний хувирлаар тодорхойлон үзэхэд мөөгөнцрийн 51, бактерийн 36, актиномицетийн 16, дрожжийн 15 нийт 118 өсгөвөр индол цууны хүчил нийлгэгжүүлэх чадвартай байлаа. Эдгээрээс тод улаан өнгө өгсөн 21FGP20-S1-1, 21FP23-R2-1 (мөөгөнцөр), 21YP36-L1, 21YP36-L1-1 (дрожж), 21BGP20-L2, 21BGP26-H1, 21BGP23-R5 (бактери), 22ATP2-L2-1, 22ATP5-S2, 22ASP6-1K-1-1, 22AP6-2K-38 22AKHP8-S2, 22AP9-R2-1, 21AP32-S2-1 (актиномицет) өсгөврүүдийг шаашдын судалгаанд сонгон авсан.

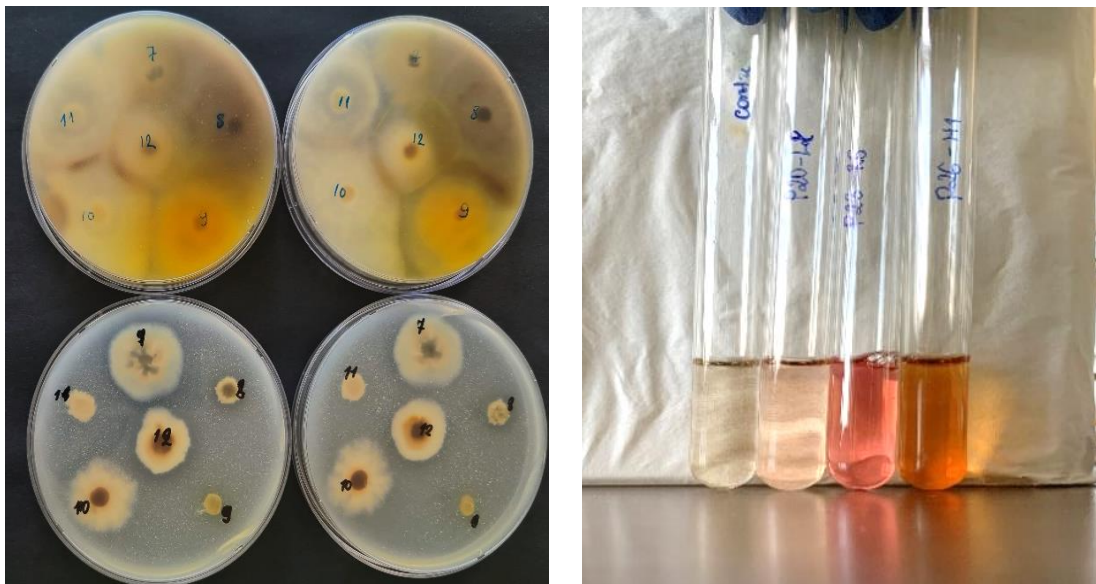


Диаграмм 9. ИЦХ нийлэгжүүлэгч өсгөврийн тоо

Эндофит бичил биетний фосфат болон цайр уусгах чадварыг тодорхойлоход мөөгөнцрийн 57, бактерийн 53, актиномицетийн 2, дрожжийн 9 өсгөвөр фосфат уусгах идэвх үзүүлсэн бол мөөгөнцрийн 84, бактерийн 8, актиномицетийн 1, дрожжийн 7 өсгөвөр цайр уусгах идэвх үзүүлсэн.



Диаграмм 10. Фосфат, цайр уусгах чадвартай өсгөврийн тоо



Зураг 20. Фосфат, цайр уусгалт болон индол цууны хүчил нийлэгжүүлж буй нь

3.4. Шинэ бодис эсвэл эзэн ургамалтайгаа адил эмт бодис нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоож, тэдгээрийг ашигласан хэрэглээнд чиглэсэн туршилт судалгаа хийх;

3.4.1. Шинэ бодис нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоох

3.4.1.1. Микробын эсрэг идэвхтэй өсгөврүүдээс ханд бэлдэж, хандны микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлох

Микробын эсрэг идэвхийн туршилтын үр дүнд тулгуурлан өндөр идэвх үзүүлсэн P20-S1-1, P23-R1-2, P26-H2-2, P32-R1-1 мөөгөнцрийн өсгөврийг сонгож, мөөгөнцрийн ханд бэлтгэн нийлэгжүүлж буй идэвхтэй бодисыг ялган тодорхойлох туршилт судалгаа хийв.

3.4.1.2. Мөөгөнцрийн ханд бэлтгэх

Мөөгөнцрийн P20-S1-1, P23-R1-2, P26-H2-2, P32-R1-1 өсгөврүүдийг PDB тэжээлт орчинд 25-30 хоног ургуулан, тэдгээрийн мицелл ба өсгөврийн шингэний хандыг арга зүйн дагуу тус тус бэлтгэв (зураг 21).



Зураг 21. Мөөгөнцрийн мицеллийн этилацетатын ханд

Мөөгөнцрийн мицелл ба өсгөврийн шингэн тус бүрийг этилацетатаар хандалж, өтгөрүүлэн өтгөн ханд гарган авав (хүснэгт 7, зураг 21).

Мөөгөнцрийн мицелл ба шингэний өтгөн ханд

Хүснэгт 7.

| Өсгөврийн дугаар | P20-S1-1 | | P23-R1-2 | | P26-H2-2 | | P32-R1-1 | |
|--------------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|
| Хандалсан дээж, дээжний хэмжээ | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд |
| | 39г | 500мл | 35г | 500мл | 32г | 500мл | 41г | 500мл |
| Хандны хэмжээ, мг | 60.7мг | 72.8мг | 16.6мг | 10.3мг | 13.1мг | 72.1мг | 12.2мг | 31.8мг |



Зураг 22. Мөөгөнцрийн өтгөн ханд

3.4.1.3. Хандны микробын эсрэг идэвхийг агар диффузийн аргаар тодорхойлох

Эндофит мөөгөнцрийн хандны микробын эсрэг идэвхийг 5 тест организм: Грам сөрөг бактери *Escherichia coli*, Грам эерэг бактери *Staphylococcus aureus*, Грам эерэг, спор үүсгэгч бактери *Bacillus subtilis*, дрожж *Candida albicans*, мөөгөнцөр *Aspergillus niger* ашиглан тодорхойлов. Хяналтаар канамицин сульфат 25мкг/мл, циклогексимид 50 мкг/мл тус тус ашигласан. Туршилтын үр дүнд P20-S1-1 өсгөврийн мицелийн ханд (цаашид P20-M гэх) *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* болон *C. albicans* зэрэг 4 бичил биетний эсрэг идэвх үзүүлж, түүний өсгөврийн шингэний ханд (цаашид P20-S гэх) *E. coli*, *B. subtilis* болон *C. albicans* зэрэг 3 бичил биетний эсрэг идэвх үзүүлсэн. P26-H2-2 дугаартай өсгөврийн мицелийн ханд (цаашид P26-M гэх) 5 тест организмын эсрэг идэвх үзүүлээгүй бөгөөд өсгөврийн шингэний ханд нь (цаашид P26-S гэх) *S. aureus*, *B. subtilis* -ийн эсрэг

идэвхийг үзүүлсэн. P32-R1-1 дугаартай өсгөврийн мицелийн ханд (цаашид P32-M гэх) *E. coli*, *B. subtilis*-ийн эсрэг идэвхтэй, өсгөврийн шингэний ханд (цаашид P32-S гэх) *B. subtilis*-ийн эсрэг идэвхтэй байв (хүснэгт 8).

P20, P26, P32 дугаартай өсгөврүүдийн мицел болон өсгөврийн шингэний хандны бичил биетний эсрэг идэвх

Хүснэгт 8.

| № | Өсгөврийн дугаар | Бичил биетний эсрэг идэвх, мм (диаметр) | | | | |
|----|----------------------------------|---|------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>C. albicans</i> | <i>A. niger</i> |
| 1. | P20-M мицеллийн ханд | 11±1 | 11±1 | 15±1 | 10±1 | - |
| 2. | P20-S өсгөврийн шингэний ханд | 10±1 | - | 15±1 | 10±1 | - |
| 3. | P26-M мицеллийн ханд | - | - | - | - | - |
| 4. | P26-S өсгөврийн шингэний ханд | - | 12±1 | 16±1 | - | - |
| 5. | P32-M мицеллийн ханд | 11±1 | - | 12±1 | - | - |
| 6. | P32-S өсгөврийн шингэний ханд | - | - | 13±2 | - | - |
| | Хяналт | 22±2 | 25±0.1 | 24±0 | 21±1 | 19±1 |

3.4.1.4. Хандны микробын эсрэг идэвхийг тоон аргаар тодорхойлох

P20-M, P20-S, P23-M, P23-S, P26-M, P26-S, P32-M, P32-S хандны микробын эсрэг идэвхийг 5 тест организм: *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *A. niger*-ийн эсрэг үйлчилж спектрофотометрийн аргаар тодорхойлж тоон үзүүлэлтийг гаргав. Бактерийн тест өсгөврийг 1×10^6 эс/мл, дрожж, мөөгөнцрийг 1×10^4 эс/мл байхаар тооцож 96 үүрт хавтанд тарьсан. Тест өсгөврүүдийг 100-200мкг (DMSO агууламж 0.5%-аас ихгүй) концентрацитай ханд байхаар тооцоолон 24-48 цаг үйлчлэн, гэрлийн шингээлтийг спектрофотометрийн 630нм-т хэмжлээ. Хяналт болгон бодисоор үйлчлээгүй ижил тооны эсүүд, эерэг хяналтаар канамицин сульфат (25мкг/мл) болон циклогексимид (50мкг/мл)-ээр

үйлчилсэн, сөрөг хяналтаар 0.5% DMSO-оор үйлчилсэн эсүүдийг авсан. Ялгасан ханд тус бүрийн эсийг дарангуйлах идэвхийг дараах томьёо (1)-г ашиглаж тооцов.

$$\text{Дарангуйлах идэвх \%} = 100 - [(A_{\text{дээж}} / A_{\text{сөрөг хяналт}}) \times 100] \quad (1)$$

P20-M мицелийн ханд болон P20-S өсгөврийн шингэний ханд *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*, *A. niger* буюу бүх тест организмын эсрэг идэвх үзүүлж, эсийн өсөлтийг 31.59-80.37% ба 31.91-77.91% тус тус дарангуйлж байв. P23S өсгөврийн шингэний ханд *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *C. albicans*-ийн эсрэг идэвх үзүүлсэн бол P23M мицелийн ханд эдгээр тест организмын эсрэг идэвх үзүүлээгүй, харин *A. niger*-ийн эсийн өсөлтийг бага зэрэг дарангуйлж байв. P26M мицелийн ханд *C. albicans*-ийн эсрэг сул идэвхтэй, P26S өсгөврийн шингэний ханд 5 тест организмын эсрэг идэвх үзүүлээгүй. P32S өсгөврийн шингэний ханд бүх тест организмын эсийн өсөлтийг 21.80-55.04% дарангуйлж байсан бол P32M мицелийн ханд нь тэдгээрийн эсрэг идэвх үзүүлээгүй (хүснэгт 9).

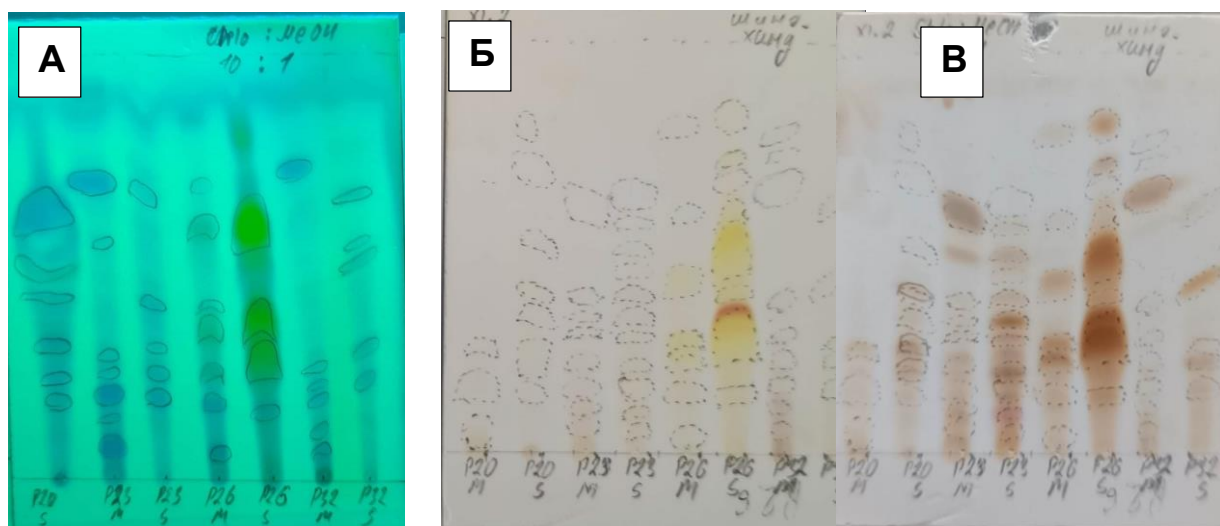
Мөөгөнцрийн хандны микробын эсрэг идэвх

Хүснэгт 9.

| Мөөгөнцрийн хандны дугаар | Бичил биетний эсийн өсөлтийг дарангуйлсан идэвх, % (48 цагт) | | | | |
|---------------------------|--|-----------------|-------------------|-------------------|----------------|
| | <i>E.coli</i> | <i>S.aureus</i> | <i>B.subtilis</i> | <i>C.albicans</i> | <i>A.niger</i> |
| хяналт (+) | 91.44 | 86.39 | 86.01 | 62.66 | 82.80 |
| P20M | 31.59 | 42.50 | 45.81 | 80.37 | 48.05 |
| P20-S | 34.87 | 45.82 | 31.91 | 77.91 | 68.86 |
| P23-M | 4.73 | -7.16 | 9.66 | -0.67 | 20.41 |
| P23-S | 47.53 | 49.27 | 54.39 | 38.38 | 16.71 |
| P26-M | 3.07 | -30.54 | -16.38 | 20.07 | 16.14 |
| P26-S | -107.03 | -174.13 | -138.08 | -113.29 | -183.65 |
| P32-M | 12.54 | 10.94 | 17.07 | -1.43 | 15.96 |
| P32-S | 30.28 | 21.80 | 48.61 | 32.19 | 55.04 |

3.4.1.5. Идэвхтэй хандыг фракцалж, бодис ялгаж, бодисын идэвх тодорхойлох

Ханд бүрийн чанарын шинжилгээг нимгэн үеийн хроматограм (НҮХ)-ийн аргаар хийж, хроматограмыг үзэгдэх гэрэл, хэт ягаан туяа (ХЯТ)-ны 254 нм-ийн гэрэл, 5%-ийн H_2SO_4 -ээр үйлчилсний дараа үзэгдэх гэрэлд тус тус шинжлэв (Зураг 20). Судалгааны дүнд мөөгөнцрийн мицелл ба өсгөврийн шингэний ханд бүрт ХЯТ-ны 254 нм-ийн гэрэл харагдах олон бодис илэрсэн ба үзэгдэх гэрэлд зөвхөн P26-M ба P26-S хандны зарим бодис бор, бор шаргал өнгөтэйгээр илрэв. Бусад хандны бодисууд илрээгүй. Харин 5%-ийн H_2SO_4 -ээр үйлчилж халаахад мөөгөнцрийн ханднууд дахь бодисууд үзэгдэх гэрэлд бор, бор шаргал өнгөөр тодорсон ба хроматограмыг тасалгааны хэмд, үзэгдэх гэрэлд 30 хоног байлгахад өөрчлөлт ажиглагдаагүй.



Зураг 23. Мөөгөнцрийн мицелл ба өсгөврийн шингэний хроматограм

Уусгагчийн систем: хлороформ : метанол – 10 : 1

А. ХЯТ-ны 254 нм гэрэлд; Б. Үзэгдэх гэрэлд; В. 5 %-ийн H_2SO_4 -ээр үйлчилсний дараа үзэгдэх гэрэлд;

3.4.1.6. Мөөгөнцрийн бодис нийлэгжлийн хугацаа тодорхойлох

Микробын эсрэг хамгийн өндөр идэвх үзүүлсэн P20-S1-1 мөөгөнцрийн өсгөврөөс мицелл ургах хугацаа, улмаар бодис нийлэгжлийг арга зүйн дагуу хийж, мицелл ба өсгөврийн шингэний чанарыг НҮХ-ийн аргаар шинжлэхэд 14 хоног өсгөвөрлөсөн мөөгөнцрийн ханданд 5 бодис, 21 хоногт 9 бодис, 30 хоногт 10 бодис тус тус илрэв (зураг 24).



Зураг 24. P20-S1-1 мөөгөнцрийн мицелл ба өсгөврийн шингэний хроматограм

Иймд P20-S1-1 мөөгөнцрийн мицелл ургах хугацаа 30 хоног байхад олон бодис нийлэгжиж байгаа тул энэ хугацааг сонгож дээж бэлтгэв.

3.4.1.7. Мөөгөнцрийн ханднаас бодис ялгах

Мөөгөнцрийн 30 хоног өсгөвөрлөсөн ханднаас гол, их хэмжээтэй нийлэгжсэн бодисуудыг бэлдмэлийн НҮХ-ийн аргаар цэврээр ялгав. Үүний дүнд P20-S1-1(M)-ээс 4, P20-S1-1(S)-ээс 3, P23-R1-2(M)-ээс 2, P23-R1-2(S)-ээс 4, P26-H2-2(M)-ээс 5, P26-H2-2(S)-ээс 5, P32-R1-1(M)-ээс 4, P32-R1-1(S)-ээс 4 бодис тус тус ялгасан ба нийт 31 бодисыг цэвэр байдлаар ялгав (хүснэгт 10, зураг 25-28).

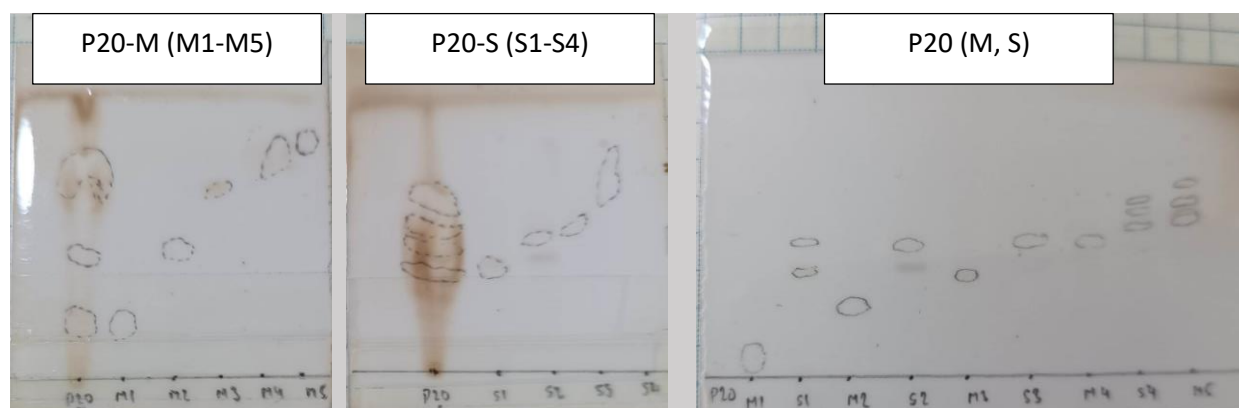
Мөөгөнцрийн ханднаас цэвэршүүлсэн гол бодисуудын гарц

Хүснэгт 10.

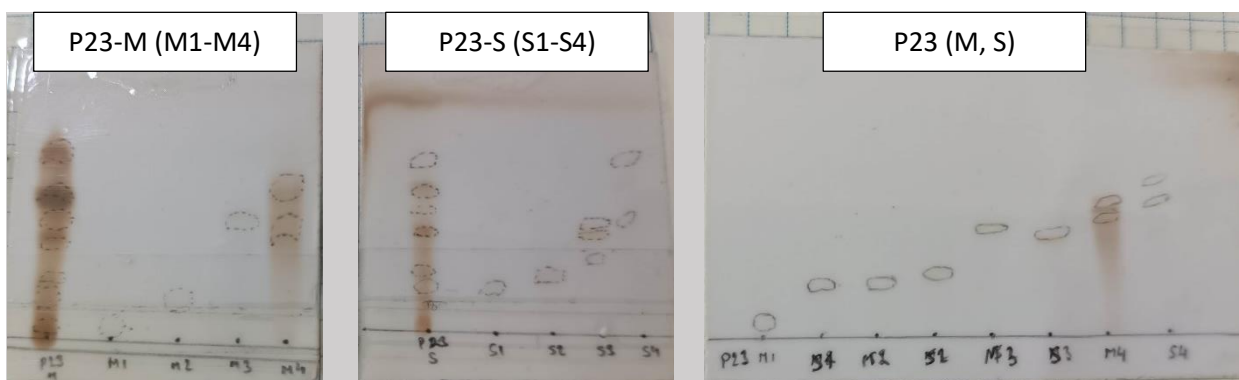
| № | Өсгөврийн дугаар | P20-S1-1 | | P23-R1-2 | | P26-H2-2 | | P32-R1-1 | |
|---|--------------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|
| | | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд |
| | Хандалсан дээж, дээжний хэмжээ | 39г | 500мл | 35г | 500мл | 32г | 500мл | 41г | 500мл |
| | ЭА-ийн өтгөн хандны хэмжээ, мг | 60.7мг | 72.8мг | 16.6мг | 10.3мг | 13.1мг | 72.1мг | 12.2мг | 31.8мг |

Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа

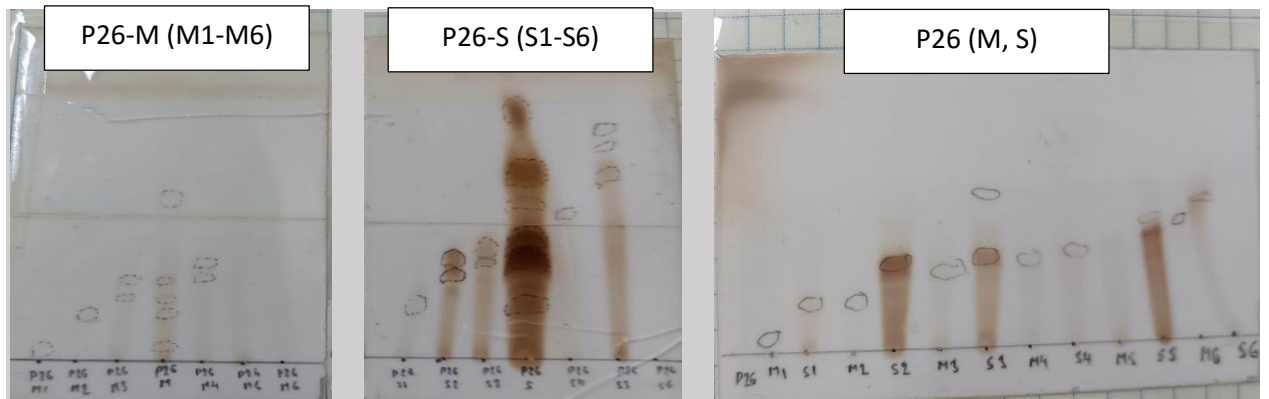
| | | | | | | | | | |
|---|-----------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| 1 | 1-р бодис | 1.2мг | 0.8мг | 0.7мг | 1мг | 0.7мг | 1.8мг | 0.6мг | 0.3мг |
| 2 | 2-р бодис | 1.2мг | 5.1мг | P23-S1.тэй нийлүүлсэн | 0.3мг | P26-S1.тэй нийлүүлсэн | 5.8мг | 0.5мг | 1.5мг |
| 3 | 3-р бодис | 1мг | P20-S2.той нийлүүлсэн | P23-S3.тай нийлүүлсэн | 1мг | 0.7мг | P26-S2.той нийлүүлсэн | 0.6мг | 0.3мг |
| 4 | 4-р бодис | P20-S2.той нийлүүлсэн | 7.2мг | 1.3мг | 0.3мг | 1.1мг | 0.7мг | P32-S2.той нийлүүлсэн | 0.7мг |
| 5 | 5-р бодис | 8мг | - | - | - | 1.1мг | 5.1мг | 1.9мг | - |
| 6 | 6-р бодис | - | - | - | - | 0.3мг | 1мг | - | - |



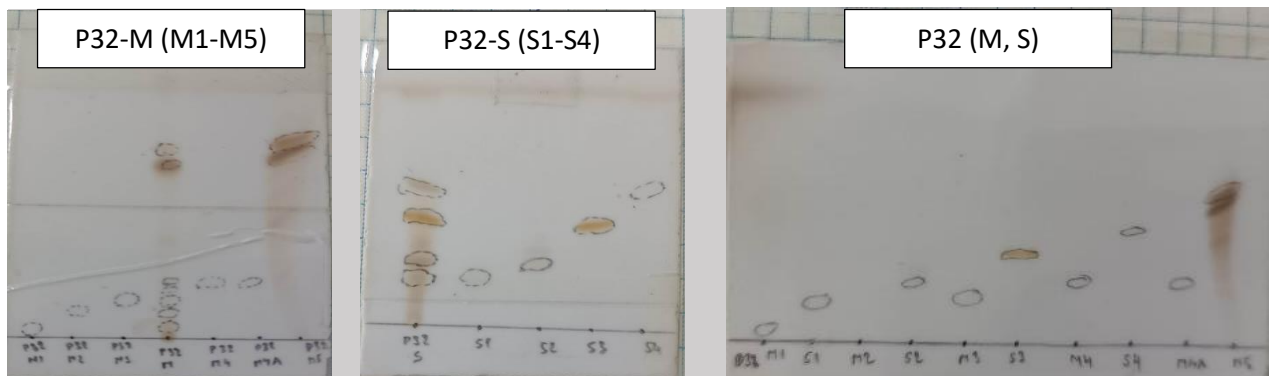
Зураг 25. P20-S1-1 өсгөврийн мицелл болон өсгөврийн шингэний ханднаас ялгасан гол бодисуудын хроматограм, 5%-ийн H₂SO₄-ээр үйлчилсний дараа үзэгдэх гэрэлд



Зураг 26. P23-R1-2 өсгөврийн мицелл болон өсгөврийн шингэний ханднаас ялгасан гол бодисуудын хроматограм, 5 %-ийн H₂SO₄-ээр үйлчилсний дараа үзэгдэх гэрэлд



Зураг 27. P26-H2-2 өсгөврийн мицел болон өсгөврийн шингэний ханднаас ялгасан гол бодисуудын хроматограм, 5%-ийн H_2SO_4 -ээр үйлчилсний дараа үзэгдэх гэрэлд



Зураг 28. P32-R1-1 өсгөврийн мицел болон өсгөврийн шингэний ханднаас ялгасан гол бодисуудын хроматограм, 5 %-ийн H_2SO_4 -ээр үйлчилсний дараа үзэгдэх гэрэлд

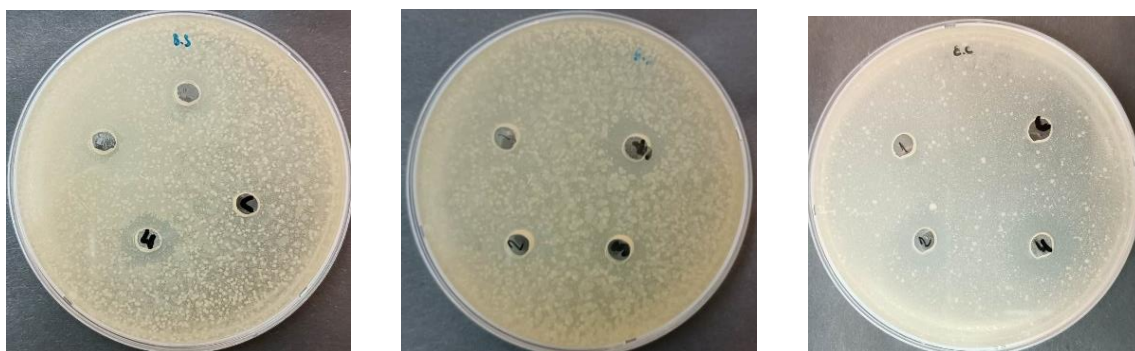
3.4.1.8. Ялгасан бодисын микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлох

P20-S1-1, P23-R1-2, P26-H2-2, P32-R1-1 дугаартай өсгөврүүдээс нийт 31 бодис ялгаж авсан. Мицеллийн болон өсгөврийн шингэний ханднуудын 5 тест организмын эсрэг үзүүлсэн үр дүн дээр тулгуурлан P20M 4 бодис, P20S 3 бодис, P23S 4 бодис, P26S 5 бодис, P32S 4 бодис, P32M 4 бодис нийт 24 бодисын микробын эсрэг идэвхийг тодорхойллоо. P20S өсгөврийн шингэнээс ялгасан 1,2,4 дугаартай бодисууд *E. coli*, *B. subtilis*-ийн эсрэг идэвхтэй, P20M мицелийн хандны 5 дугаартай бодис *B. subtilis*-ийн эсрэг идэвхтэй байв. P23S 4 бодис, P26S 5 бодис, P32S 4 бодис, P32M 4 бодис бүгд 5 тест организмын эсрэг идэвх үзүүлээгүй (хүснэгт 11, зураг 29).

Мөөгөнцрийн бодисуудын микробын эсрэг идэвх

Хүснэгт 11.

| Мөөгөнцрийн хандны дугаар | Бодисны дугаар | Тест организмын эсийн өсөлтийг дарангуйлсан идэвх, % | | | | |
|---------------------------|----------------|--|----------|------------|------------|---------|
| | | E.coli | S.aureus | B.subtilis | C.albicans | A.niger |
| P20M | 1 | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | 13±1 | - | - |
| P20-S | 1 | 11±1 | - | 12±0 | - | - |
| | 2 | 14±1 | - | 13±1 | - | - |
| | 4 | 15±1 | - | 14±1 | - | - |
| P23-S | 1 | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - |
| P26-S | 1 | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - |
| | 6 | - | - | - | - | - |
| P32-S | 1 | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - |
| | 4 | - | - | - | - | - |
| P32-M | 1 | - | - | - | - | - |
| | 2 | - | - | - | - | - |
| | 3 | - | - | - | - | - |
| | 5 | - | - | - | - | - |
| Сөрөг хяналт | | - | - | - | - | - |



Зураг 29. Мөөгөнцрийн ханднаас ялгасан бодисын микробын эсрэг идэвх

3.4.1.9. Идэвхтэй бодисыг тодорхойлох

P20-S1-1 дугаартай өсгөврөөс их хэмжээний биомасс бэлдэж, мицелл болон өсгөврийн шингэний хандыг өмнөх арга зүйн дагуу дахин бэлтгэн, фракцуудыг салгаж, багажаар тодорхойлоход хүрэлцэхүйц хэмжээгээр бодис гарган авав (хүснэгт 12).

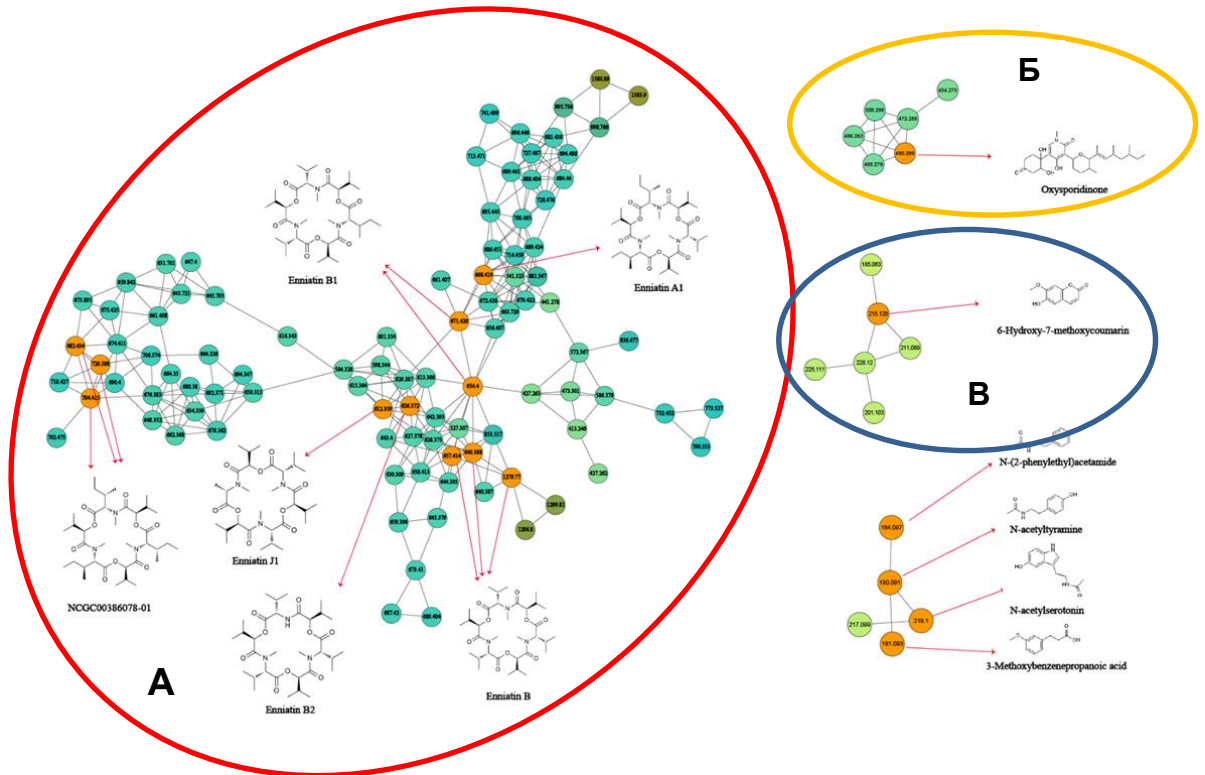
P20-S1-1 дугаартай өсгөврөөс ялгаж авсан бодис

Хүснэгт 12.

| № | Өсгөврийн дугаар | P20-S1-1 | |
|---|--------------------------------|----------------|-------------------------|
| | Хандалсан дээж, дээжний хэмжээ | мицеллийн ханд | өсгөврийн шингэний ханд |
| | | | |
| | ЭА-ийн өтгөн хандны хэмжээ, мг | 6.36г | 600мл |
| 1 | 1-р бодис | 29.3мг | 59мг |
| 2 | 2-р бодис | 3.2мг | 0.9мг |
| 3 | 3-р бодис | 2.9мг | 2.2мг |
| 4 | 4-р бодис | 0.7мг | 0.8мг |
| 5 | 5-р бодис | 0.5мг | 0.5мг |
| 6 | 6-р бодис | 3.6мг | 1мг |
| | | - | 0.8 мг |

Нийлмэл ханд болон бичил биетний эсрэг идэвхтэй өсгөврийн шингэний 1,2,4 дугаартай бодис болон мицелийн 5 дугаартай бодисыг БНХАУ-ын Анагаахын шинжлэх ухааны академийн Анагаахын биотехнологийн хүрээлэнд Молекул нетворкинг (Molecular networking) аргаар тодорхойлов. Энэ арга 2012 онд анх гарсан бөгөөд дараалсан масс спектрометрийг ашиглан гарсан туршилтын үр дүнг, спектрийн төстэй байдлаар нь харьцуулах замаар молекулуудыг хооронд нь уялдуулж өгдөг. Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) хэмээх MS/MS өгөгдөл боловсруулах дэлхийн хамгийн том мэдээллийн хэрэгслийг ашиглан үр дүнг гаргаж авдаг байна (Zhang *et al.*, 2023).

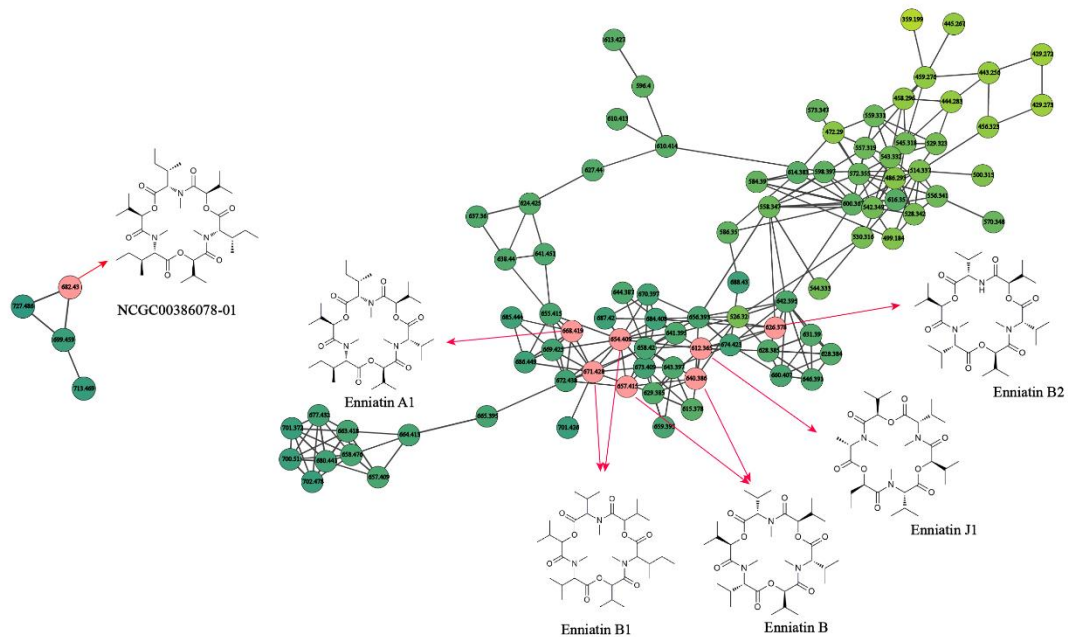
Энэхүү туршилтын үр дүнд Нөмрөгт банздооноос ялгасан, микробын эсрэг өндөр идэвхтэй *Fusarium* төрлийн мөөгөнцөр болох P20-S1-1 өсгөвөр нь олон төрлийн шинэ бодис нийлэгжүүлдэг болох нь тогтоогдлоо.



Зураг 30. P20S ба P20M нийлмэл хандны Молекул нетворкинг үр дүн
А. Цагираг бүтэцтэй пептидүүд, энниатин ба шинэ аналогууд,
Б. Оксиспородинон ба шинэ аналогууд, В. Изоскополетин ба шинэ аналогууд

P20-S1-1 өсгөврийн P20S ба P20M нийлмэл хандны үр дүнгээс харахад (Зураг 30) нийлэгжүүлж буй гол бодис нь цагираг бүтэцтэй пептидүүд байв. Цагираган пептидүүд сүүлийн жилүүдэд судлаачдын анхаарлыг их татаж, судалгаа эрчимжиж, сүүлийн 20 жилд 18 пептид эмчилгээнд нэвтэрсэн байна (Zhang and Chen, 2021). P20S ба P20M нийлмэл ханданд 80 гаруй цагираган пептид байгаагаас 8 нь мэдэгдэж буй бодис буюу энниатин хэмээх бодис байв. Энниатины А, А1, В, В1, В2, В3, В4, D, E, F, G болон J аналог мэдэгдээд байгаа (Prosperini *et al.*, 2017)-гаас P20-S1-1 өсгөвөр энниатин А1, В, В1, В2, J1 аналогуудыг нийлэгжүүлж байна. Эдгээрийн дотор энниатин В нь бактери, мөөгөнцрийн эсрэг үйлчилгээтэй, гербицид, пестицид шинж чанартай (Prosperini *et al.*, 2017), энниатин А нь антибиотик чанартай төдийгүй зарим хавдрын шугаман эсийг дарангуйлах идэвхтэй болох нь тогтоогдсон (Sy-Cordero *et al.*, 2012) тул манай ханданд олон тооны шинэ аналогууд агуулагдаж байгаа нь шинжлэх ухааны төдийгүй практик ач холбогдол асар өндөр үр юм. Түүнчлэн, оксиспородинон хэмээх патоген мөөгөнцрийн эсрэг өндөр идэвхтэй бодис ба

түүний шинэ аналогууд илэрсэн. Оксиспородинон нь *Botrytis cinerea* and *Venturia inequalis* зэрэг ургамлын өвчин үүсгэгч мөөгөнцрүүдийн эсрэг үйлчилгээтэй бодис юм (Breinholt *et al.*, 1997). Дараагийн маш сонирхол татахуйц бодис нь изоскополетин (isoscopoletin, synonym: 6-Hydroxy-7-methoxycoumarin) болон түүний шинэ аналогууд байна. Изоскополетин нь Аргийн шарилж (*Artemisia argyi*)-ны навчин дахь идэвхтэй нэгдэл бөгөөд цусны цагаан эсийн хавдрын эс, олон антибиотикт тэсвэртэй CEM/ADR5000 шугаман эсийг дарангуйлах идэвхтэй (Adams *et al.*, 2006)-гээс гадна элэгний гепатит В вирус (HBV)-ийн репликацийг дарангуйлах чадвартай (Li *et al.*, 2005) бодис билээ.

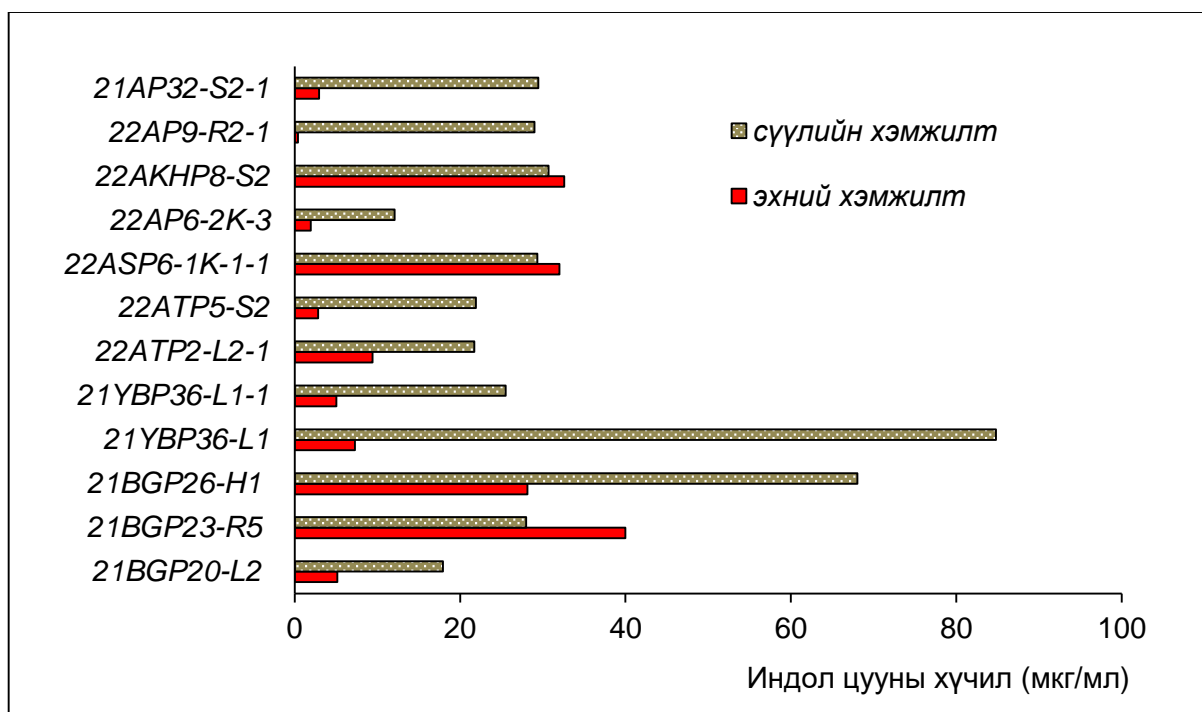


Зураг 31. Цэврээр ялгасан бодисуудын Молекул нетворкинг үр дүн

Цэврээр ялгасан өсгөврийн шингэний 1,2,4 дугаартай бодис болон мицелийн 5 дугаартай бодисын Молекул нетворкинг үр дүнгээс харахад цагираг бүтэцтэй пептидүүд бөгөөд эдгээр нь дээр дурьдсан нийлмэл ханданд мөн илэрсэн. Энэ үр дүнгээр P20-S1-1 өсгөврийн гол үйлчлэгч бодисууд нь цагираг бүтэцтэй пептидүүд болох нь тогтоогдов.

3.4.2. Ургамалтай ижил нэгдэл нийлэгжүүлж буй эсэхийг тогтоох

Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадварын судалгаагаар (тайлангийн 3.3.2.1.) индол цууны хүчил нийлэгжүүлэгч бичил биетний өсгөврүүдийг олж тогтоосон. Энэ судалгааг нарийвчлан сонгосон өсгөврүүд дээр нийлэгжлийн хэмжээг тодорхойлов. Үүний тулд сонгосон мөөгөнцөр, дрожж, бактери, актиномицетийн өсгөврийг шингэн тэжээлийн орчинд ургуулан тухай организмын ургалтын онцлогоос хамааран 1-14 хоногийн хугацаанд хэмжилт хийсэн. Диаграм 11-т үзүүлсэн эхний хэмжилтийг бактерийн өсгөврийн хувьд өсгөвөрлөснөөс хойш 1 дэхь хоног, дрожжийг 3 дахь хоног, актиномицетийг 5 хоног дээр тус тус хийсэн. Харин сүүлийн хэмжилтийг дрожж, актиномицетийн хувьд 14 дэхь хоног, бактерийн 6 дахь хоногт хийв.

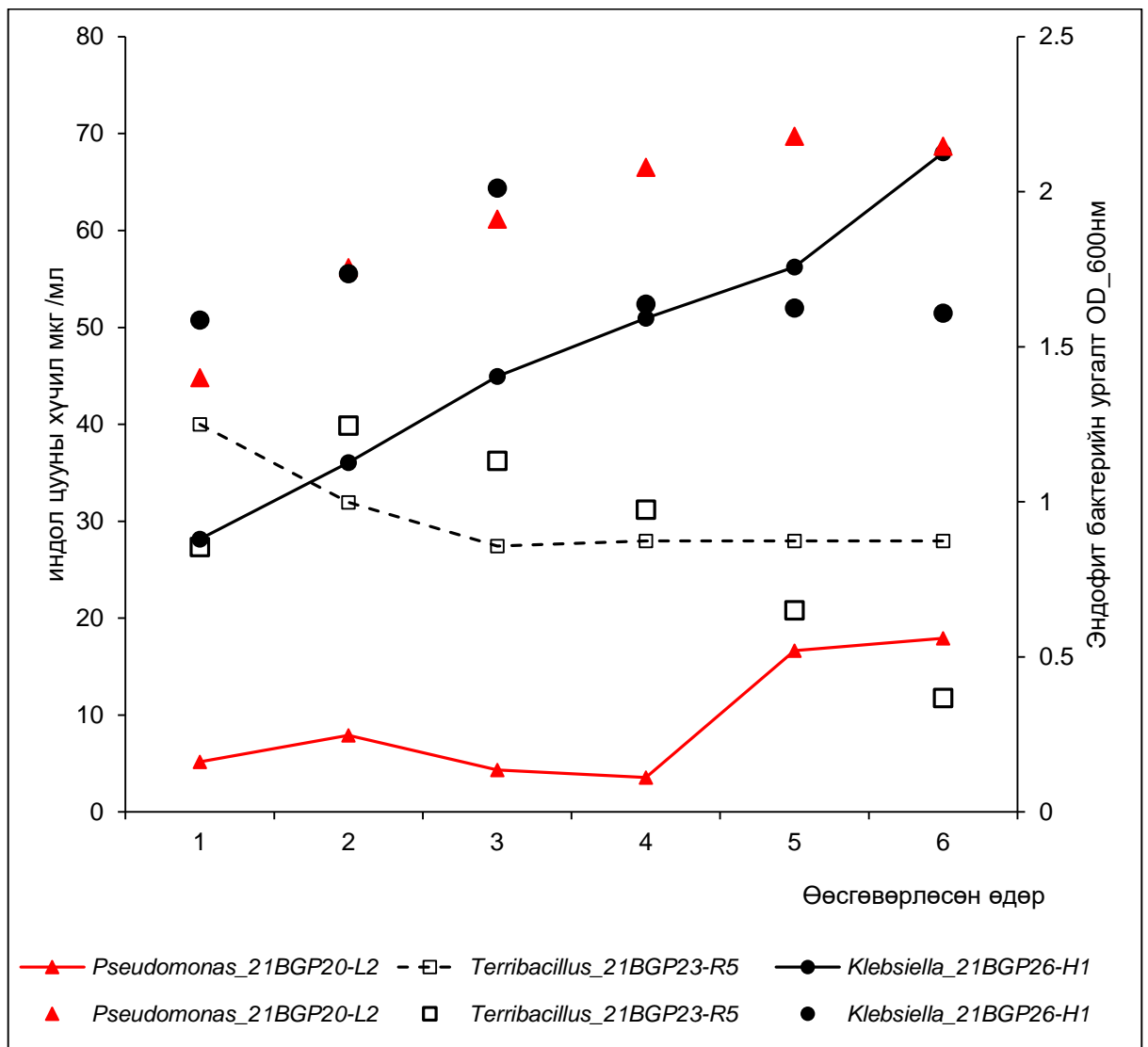


Диаграм 11. Индол цууны хүчил нийлэгжүүлдэг эндофит бичил биетэн

Диаграмаас харахад YBPP36-L1 дугаартай дрожжийн өсгөвөр нь туршилтын 3 дахь хоногтоо хамгийн өндөр буюу 84,8 мкг/мл ИЦХ нийлэгжүүлсэн. Бактерийн 21BGP26-H1 дугаартай өсгөвөр нь 6 дахь хоногтоо 68.02 мкг/мл ИЦХ нийлэгжүүлсэн. Актиномицетийн 22AP9-R2-1 дугаартай өсгөврийн ИЦХ 5 дахь хоногт 0.41 мкг/мл байсан бол 14 дэх хоногтоо 28.98 мкг/мл хүртэл өссөн нь ИЦХ нийлэгжүүлэхэд хугацаа шаардлагатай байгааг харуулж байна. Харин 22ASP6-

1К-1-1 болон 22АКНР8-S2 дугаартай актиномицетийн өсгөврүүд нь эхний хэмжилтийн үед 32.01- 32.61 мкг/мл байсан бол сүүлийн хэмжилтийн өдөр 29.33-30.70 мкг/мл болж буурсан. Тухайн өсгөврүүдийн хувьд ИЦХ-ийг богино хугацаанд нийлэгжүүлэх боломжтой байгааг харуулж байна.

Эндофит бактерийн сонгогдсон өсгөврүүдийн ИЦХ нийлэгжүүлэх чадварыг триптофантай шингэн тэжээлийн орчинд өсгөвөрлөн тоон аргаар тодорхойлон үзэхэд 21ВGP26-Н1 дугаартай *Klebsiella* төрөлд хамаарагдаж байгаа өсгөвөр нь ИЦХ-ийн нийлэгжилт (28.14 – 68.02 мкг/мл) тасралтгүйгээр нэмэгдэж байсан. Харин 21ВGP23-R5 дугаартай *Terribacillus* төрлийн өсгөврийн ИЦХ-ийн нийлэгжилт нь туршилтын хугацаанд 39.99 мкг/мл-аас 27.97 мкг/мл болж буурсан.

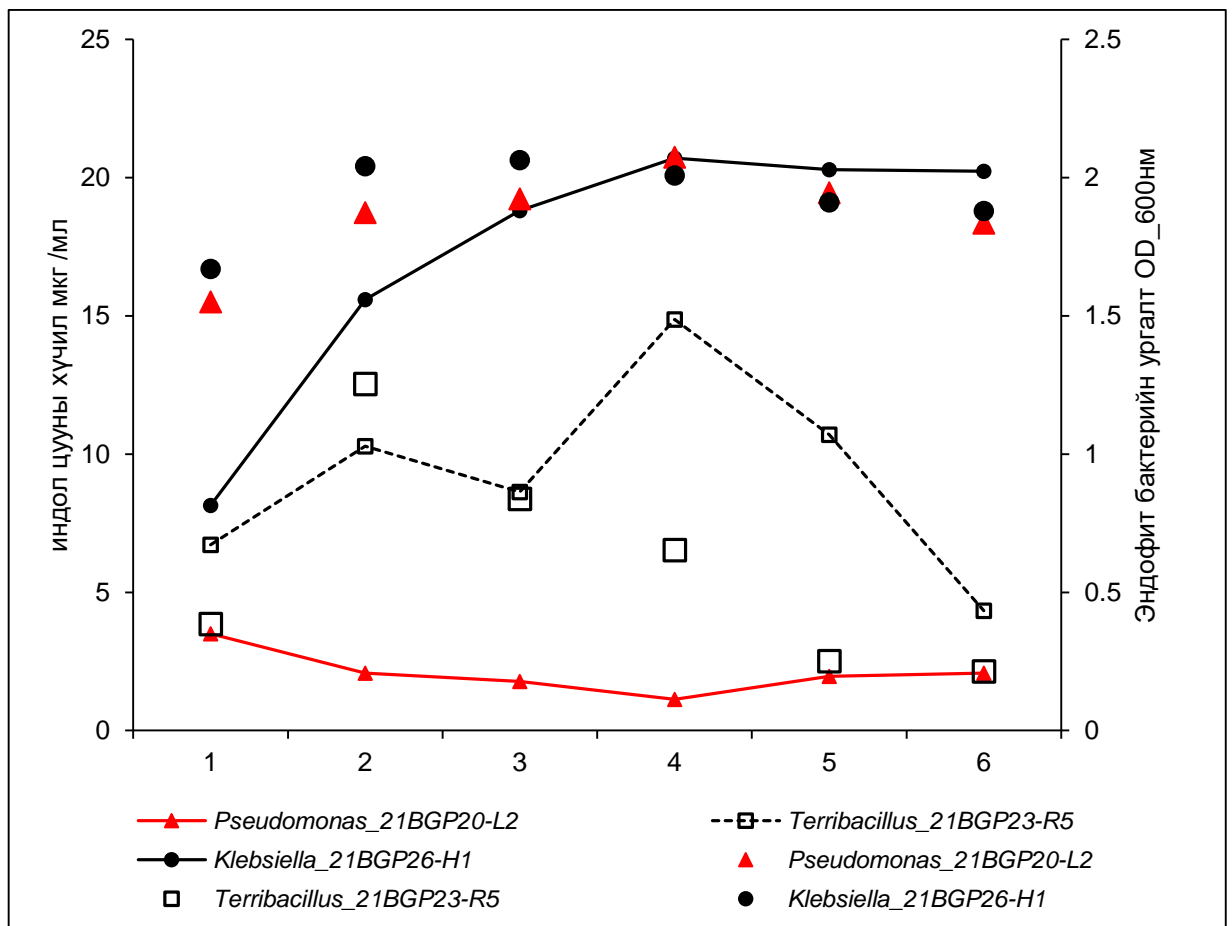


Диаграм 12. Триптофантай орчинд индол цууны хүчил нийлэгжүүлэх чадвартай эндофит бактерийн өсгөврүүд.

Pseudomonas төрлийн 21BGP20-L2 дугаартай өсгөврийн ИЦХ нийлэгжил нь эсийн ургалттай хамааралтай байв. Эхний өдөр эсийн ургалтын OD_{530нм} хэмжээ нь 1.401 байхад ИЦХ хэмжээ нь 5.17 мкг/мл байсан бол, 6 дахь өдөр OD_{530нм} хэмжээ нь 2.14 байхад ИЦХ хэмжээ нь 17.91 мкг/мл болж нэмэгдсэн.

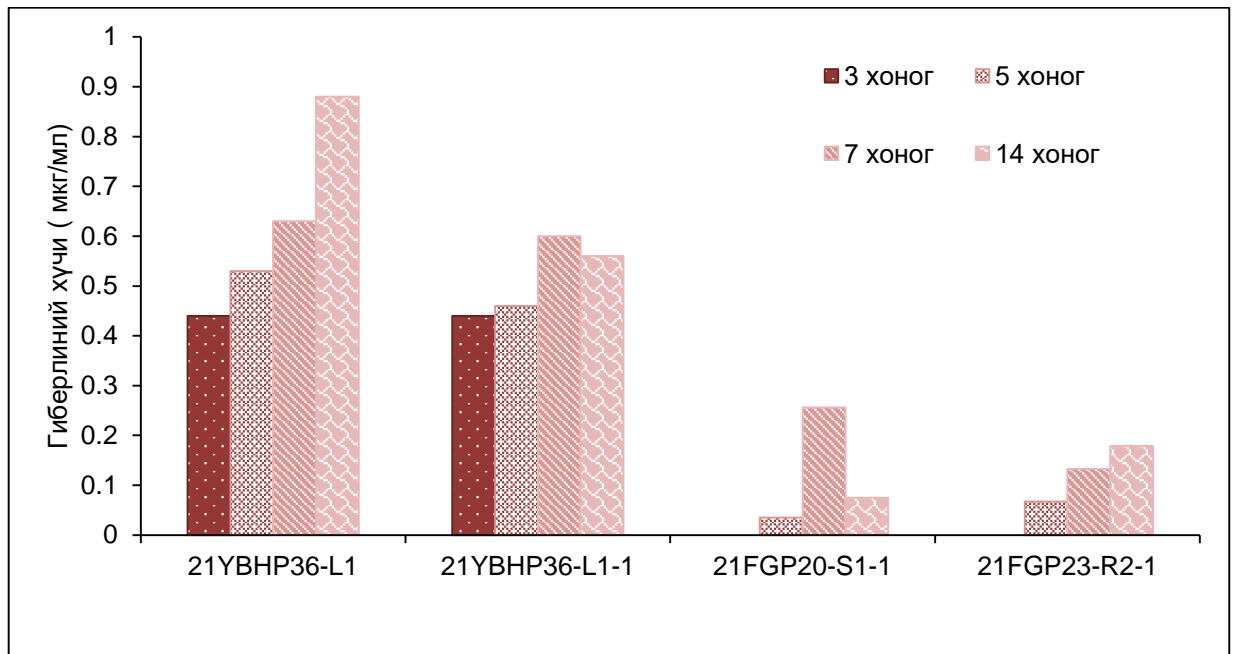
Энэхүү туршилтаар 21BGP26-H1 дугаартай *Klebsiella* төрлийн өсгөвөр нь ИЦХ-ийг хамгийн ихээр нийлэгжүүлдэг болох нь тогтоогдов. Хэвлэлийн тоймоос харахад *Klebsiella* төрлийн өсгөвөр нь ИЦХ нийлэгжүүлэх чадвар нь *Bacillus*, *Enterobacter* төрлийн өсгөврүүдээс илүү сайн байсан байна (Mowafy et al., 2021).

Триптофангүй орчинд ИЦХ нийлэгжүүлэлт туршсан дүнгээс бактерийн өсгөврүүд нь ИЦХ нийлэгжүүлж байсан боловч триптофантай тэжээлт орчинд өсгөвөрлөсөнөөс хамаагүй бага зүй тогтол илэрсэн. 21BGP26-H1 дугаартай *Klebsiella* төрлийн өсгөвөр нь мөн л ИЦХ-ийг тасралтгүй 8.14 мкг/мл –ээс 20.23 мкг/мл хүртэл нийлэгжүүлж байсан ба 4, 5, 6 дахь өдрүүдэд нийлэгжүүлэх индол цууны хэмжээ (20.23 мкг/мл) өөрчлөгдөөгүй.



Диаграм 13. Триптофангүй орчинд индол цууны хүчлийн нийлэгжил

Pseudomonas_21BGP20-L2 болон *Terribacillus_21BGP23-R5* өсгөврүүд нь эсийн ургалт буурах тусам ИЦХ нийлэгжилт буурч байлаа. Энэхүү туршилтаар ургамлын өсөлтөнд нэн шаардлагатай бактерийн бодисын солилцооны дүнд Л-триптофанаас үүсдэг ИЦХ-ийг эндофит бактери триптофангүй орчинд нийлэгжүүлж байгааг тогтоолоо.



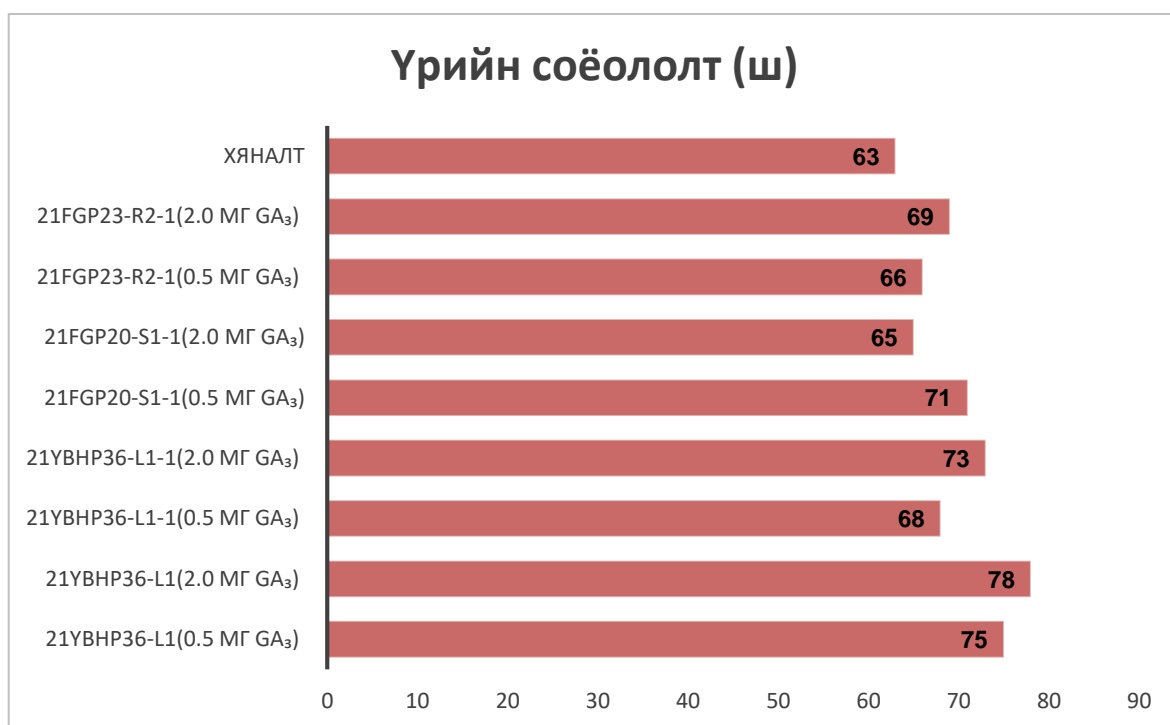
Диаграм 14. Гибберлины хүчлийн концентрацийг тодорхойлсон үр дүн.

Гадаадын судлаачид эндофит бичил биетнүүд гибберлины хүчил (ГХ) нийлэгжүүлэх чадвартай болохыг тогтоосон байдаг. Бид дрожж болон мөөгөнцрийн өсгөврүүдийн гибберлины хүчил нийлэгжлийг 3, 5, 7 болон 14 дэхь өдрүүдэд хэмжин тодорхойлсон. 21YBHP36-L1 дугаартай дрожжийн өсгөвөр 3 дахь өдөр 0,44 мкг/мл, 5 дахь өдөр 0,53 мкг/мл, 7 дахь өдөр 0,63 мкг/мл, 14 дахь өдөр 0,88 мкг/мл агууламжтай нийлэгжүүлж байв. 21YBHP36-L1-1 дугаартай дрожжийн өсгөвөр 3 дахь өдөр 0,44 мкг/мл, 5 дахь өдөр 0,46 мкг/мл, 7 дахь өдөр 0,60 мкг/мл, 14 дахь өдөр 0,56 мкг/мл агууламжтай нийлэгжүүлж байв. Харин 21FGP20-S1-1 болон 21FGP23-R2-1 дугаартай мөөгөнцрийн өсгөврүүдэд 3 дахь өдөр гибберлины агууламж тодорхойлогдоогүй. 21FGP20-S1-1 дугаартай өсгөвөр 5 дахь өдөр 0,035 мкг/мл, 7 дахь өдөр 0.256 мкг/мл байсан бол 14 дахь өдөр 0,075 мкг/мл болон буурсан. Харин 21FGP23-R2-1 дугаартай өсгөвөр 5 дахь өдөр 0,067 мкг/мл, 7 дахь өдөр 0,133 мкг/мл, 14 дахь өдөр 0,179 мкг/мл болж ГХ-ийн агууламж нь нэмэгдэж байлаа.

3.4.3. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвартай эндофит бичил биетнийг ашигласан хэрэглээнд чиглэсэн туршилт судалгаа

ИЦХ, ГХ нийлэгжүүлэх, фосфат, цайр уусгах чадварыг туршсан үр дүнд суурилан хамгийн идэвхтэй өсгөврүүдийг сонгон, ургамлын үрийн соёололт, ургалт, өвөлжилтийн дараах мэнд үлдэлтэнд үзүүлэх нөлөөг судлав.

3.4.3.1 Мөөгөнцөр болон дрожийн хандны улаан буудайн (*Triticum aestivum* L.) үрийн соёололтонд үзүүлэх нөлөө



Диаграм 15. Улаан буудайн үрийн соёололт

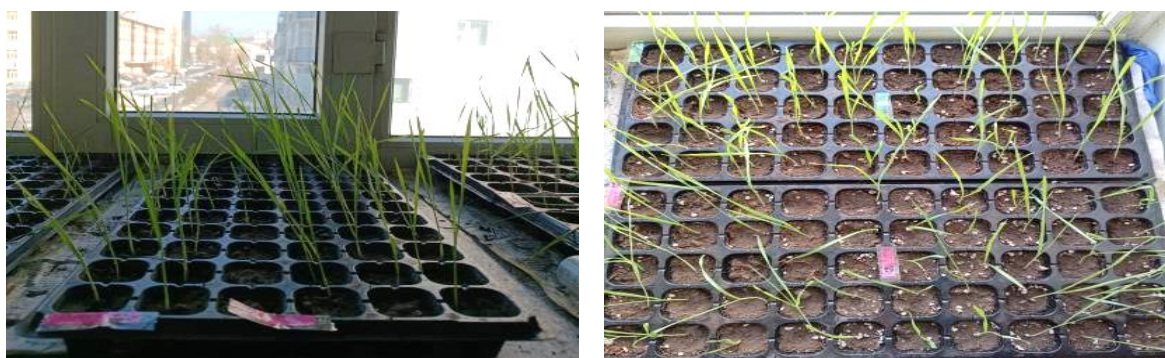
Буудайн үр соёолуулах туршилтыг эндофит дрожийн 21YBHP36-L1, 21YBHP36-L1-1 өсгөврүүд болон эндофит мөөгөнцрийн 21FGP20-S1-1, 21FGP23-R2-1 өсгөврүүд дээр туршив. 21YBHP36-L1, 21YBHP36-L1-1, 21FGP20-S1-1, 21FGP23-R2-1 өсгөврүүдээс ГХ-ийг этил ацетатаар хандлан авч 0.5 мг болон 2 мг-ийн концентрацаар 100 ш буудайн үрэн дээр үйлчлэн усан хяналттай харьцуулж үзэхэд 21YBHP36-L1 өсгөврийн 0.5 мг концентраци дээр нийт 75 ш буудайн үр соёолсон бол 2 мг концентраци дээр дээр 78 ш үр соёолсон байв. 21YBHP36-L1-1 өсгөврийн 0.5 мг концентраци дээр нийт 68 ш буудайн үр соёолсон бол 2 мг концентраци дээр дээр 73 ш үр соёолсон байв. 21FGP20-S1-1 эндофит мөөгөнцрийн өсгөврийн 0.5 мг концентраци дээр нийт 71 ш буудайн үр

соёолсон бол 2 мг дээр 65 ш үр соёолсон байв. 21FGP23-R2-1 өсгөврийн 0.5 мг концентраци дээр нийт 66 ш буудайн үр соёолсон бол 2 мг концентраци дээр дээр 69 ш үр тус тус соёолсон бол усан хяналт дээр 63 ш үр соёолов.

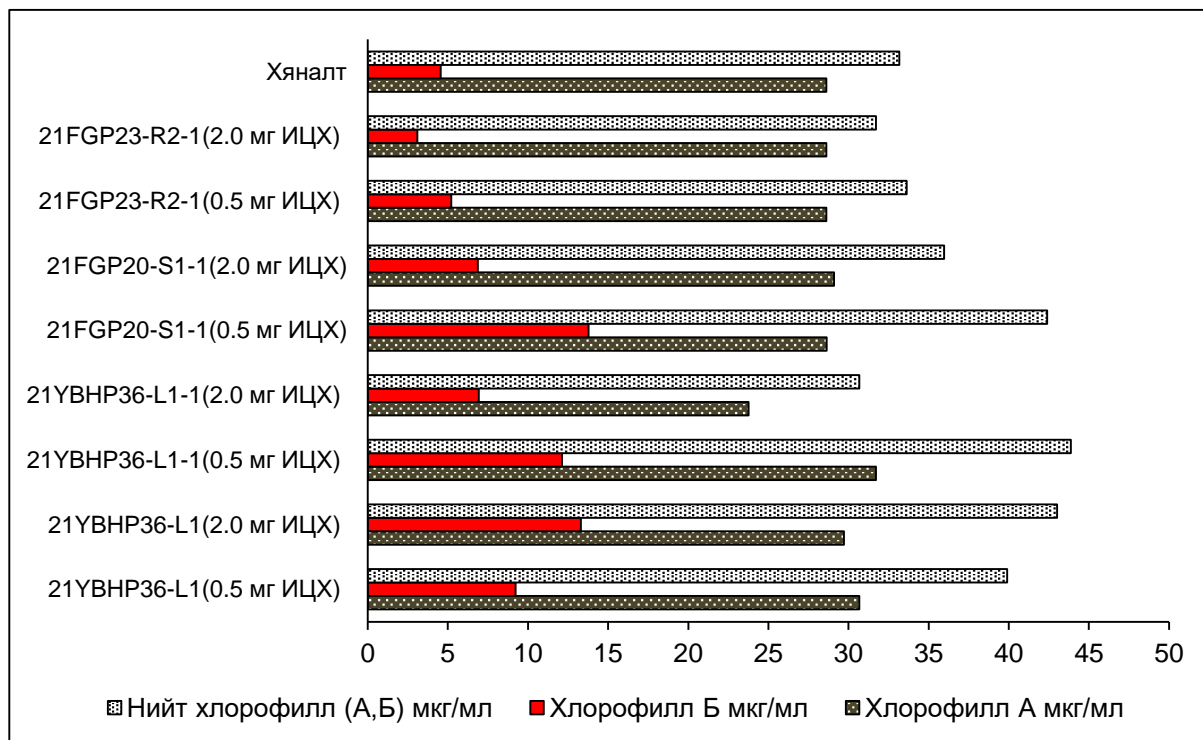


Зураг 32. Улаан буудайн (*Triticum aestivum* L.) үрийг эндофит бичил биетний өсгөврийн шингэнд агуулагдах ИЦХ-ээр үйлчилсэн туршилт (A) Үрийг P36-L1 өсгөврөөс гаралтай 2 мг/мл ИЦХ-ээр үйлчлэн хяналттай харьцуулсан байдал; (B) P36-L1-1: 2 мг/мл; (C) P20: 2 мг/мл; (D) P23: 2 мг/мл; (E) P36-L1: 0.5 мг/мл; (F) P36-L1-1: 0.5 мг/мл; (G) P20: 0.5 мг/мл; (H) P23: 0.5 мг/мл

Соёолсон буудайн үрийг хөрсөнд шилжүүлэн суулгаж эндофит дрожжийн 21YBHP36-L1, 21YBHP36-L1-1 өсгөврүүд болон эндофит мөөгөнцрийн 21FGP20-S1-1, 21FGP23-R2-1 өсгөврөөс гаралтай ИЦХ-ийг 0.5 болон 2 мг/мл концентрациар тус тус үйлчилж буудайн ургалтыг хэмжиж харьцуулалт хийхэд бүх концентраци дээр тодорхой өөрчлөлт гарсан бөгөөд буудайн үндэс, ногоон массын хэмжээг нэмэгдүүлж байв. Эндофит дрожжийн 21YBHP36-L1 өсгөвөр 0.5 мг/мл концентрацитай ИЦХ-ээр үйлчлэхэд буудайн үндэс хамгийн урт 19.3 см хүртэл ургасан байсан бол 21YBHP36-L1 2 мг/мл концентрациар үйлчлэхэд буудайн ногоон масс 25.6 см болж үндэсний салаалалт 6 ш болон нэмэгдэж байв.



Зураг 33. Улаан буудайн (*Triticum aestivum* L.) үрийн ургасан байдал

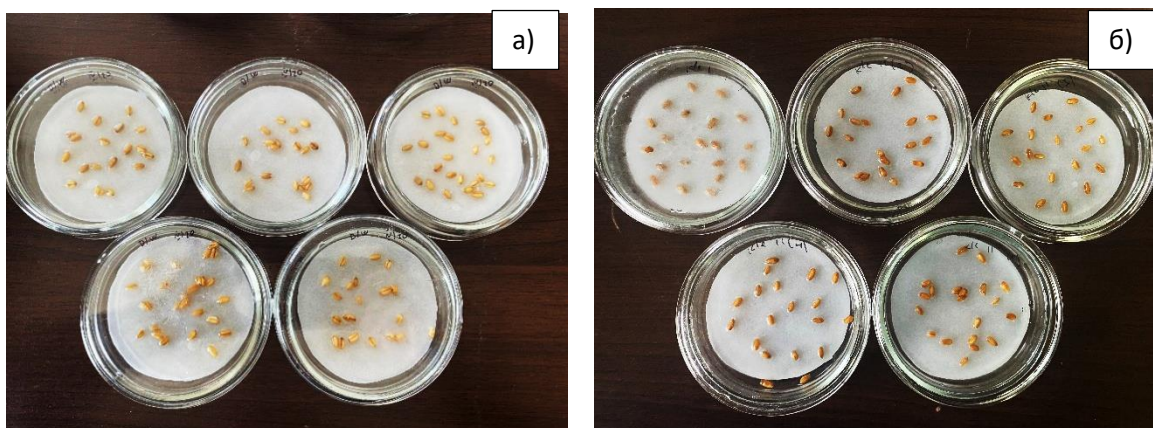


Диаграм 16. Улаан буудайн (*Triticum aestivum* L.) хлорофилл А, В болон нийт хлорофиллийн хэмжээ

Дээрх туршилтын буудайн хлорофиллийн хэмжээг тодорхойлов. 21YBHP36-L1-1 болон 21YBHP36-L1 өсгөврийн ИЦХ-ээр үйлчилсэн буудайнд Хлорофилл А -ын хэмжээ хамгийн өндөр байв. 21YBHP36-L1-1 өсгөврийн нийлэгжүүлсэн 0.5 мг ИЦХ-ээр үйлчлэхэд хлорофилл А-ийн хэмжээ 31.72 мкг/мл байсан бол 21YBHP36-L1 өсгөврийнх 30.67 мкг/мл байв. Хлорофилл В -ын хэмжээ хяналттай харьцуулахад мэдэгдэхүйц нэмэгдсэн бөгөөд 21YBHP36-L1 өсгөврийн нийлэгжүүлсэн 2 мг ИЦХ-ээр үйлчлэсэн буудайны хлорофилл В -ын хэмжээ 13.3 мкг/мл болж 21YBHP36-L1 өсгөврийн 0.5 мг үйлчлэхэд 12.12 мкг/мл болж 21FGP20-S1-1 өсгөврийн 0.5 мг үйлчлэхэд 13.77 болж тус тус нэмэгдсэн байв. А, В хлорофиллын хэмжээг нэмж нийт хлорофиллын хэмжээг гаргасан бөгөөд эндофит дрожжийн 21YBHP36-L1, 21YBHP36-L1-1 эндофит мөөгөнцрийн 21FGP20-S1-1 өсгөврөөс гаралтай ИЦХ-ээр үйлчилсэн буудайн хлорофиллын хэмжээ нэмэгдэж байв. 21YBHP36-L1 өсгөврийн 2 мг ИЦХ-ээр үйлчилсэн буудайн нийт хлорофилл 43.01 мкг/мл байсан бол 21YBHP36-L1-1 өсгөврийн 0.5 мг ИЦХ-ээр үйлчлэхэд 43.84 мкг/мл, P20 өсгөврийн 0.5 мг үйлчлэхэд 42.4 мкг/мл болж тус тус нэмэгдсэн байв.

3.4.3.2. Эндофит бактерийн өсгөврийн улаан буудайн (*Triticum aestivum* L.) үрийн соёололтонд үзүүлэх нөлөө

Эндофит бактерийн тодорхойлогдсон өсгөврүүдээс ИЦХ нийлэгжүүлэх, фосфат, цайр уусгах чадвар болон микробын эсрэг илүү өндөр идэвхтэй 21BGP20-F1, 21BGP20-L2, 21BGP23-R8, 21BGP23-R5, 21BGP26-H1, 21BGP26-H5, 21BGP27-S2 7 өсгөвөр сонгон авч улаан буудай (*Triticum aestivum* L.)-н үрэн дээр ургамлын өсөлтийг дэмжих чадварыг туршин үзсэн. Улаан буудайн үрийг 75%-ийн этилийн спиртээр 2 минут, 5%-ийн натрийн гипохлоридоор 1 минут ариутгана. Гадаргууг ариутгасны дараа ариутгасан нэрсэн ус ашиглан гадаргуугийн үлдэгдэл уусмалыг угаана. Туршилтанд ашиглах бактерийн өсгөврүүдийг LB шингэн тэжээлийн орчинд сэгсрэгч дээр 100 эрг/мин хурдтаар сэгсрэн 48 цаг өсгөвөрлөнө. Эсийн ургалтыг 600 нм-т спектрофотометрээр хэмжих ба эсийн тоог 10^7 - 10^8 байхаар тохируулна. 50 мл өсгөврийн шингэнийг 4000 эрг/мин хурдаар 10 минут центрифугдэж, ариутгасан нэрмэл усаар 2 удаа угааж биомассыг тэжээлийн орчиноос салгаж авна. Салгаж авсан биомасс руу 50 мл ариутгасан нэрмэл ус нэмсэнээр туршилтанд ашиглах бактерийн (10^6 - 10^7 эс) бэлдмэл бэлэн болно. Ариутгасан петрийн аяганд ариутгасан шүүлтүүрийн цаас тавьж бэлдэх ба бактерийн бэлдмэлээс 5 мл-ийг хийж чийглээд улаан буудайн үрнээс 20 ширхэг үр тоолон хийж, туршилтыг 5 давталтайгаар тасалгааны хэмд явуулна. Хяналт болгож ариутгасан нэрсэн ус авна.



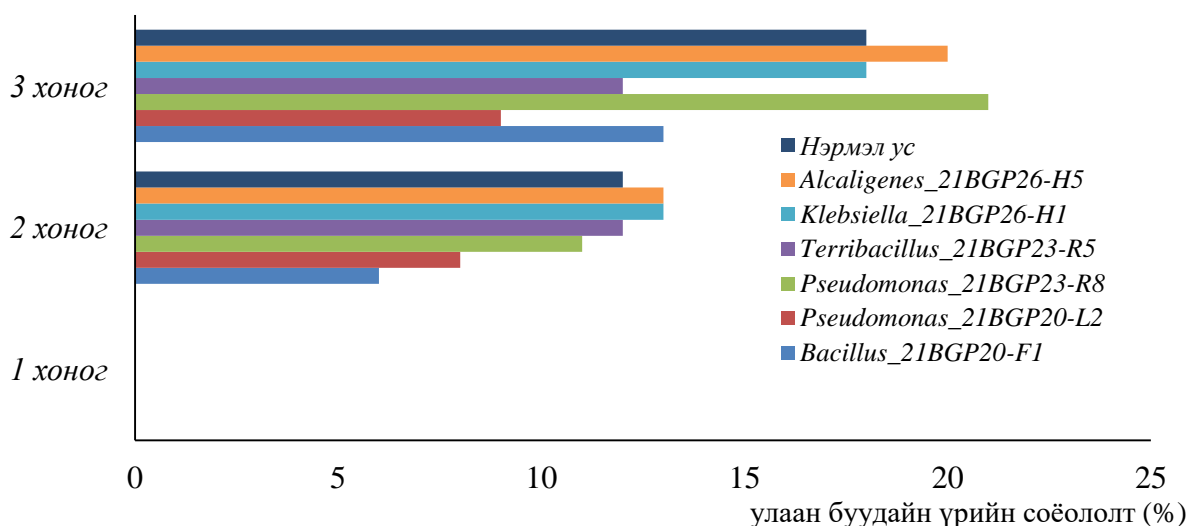
Зураг 34. Улаан буудайн үрийн соёололтыг туршсан байдал. а) Нэрмэл усанд дэвтээсэн. б) *Klebsiella_21BGP26-H1* бактерийн бэлдмэлд дэвтээсэн.



Зураг 35. Улаан буудайн үр 3 дахь хоногтоо соёолж эхэлсэн байдал. а) Нэрмэл усанд дэвтээсэн. б) *Klebsiella_21BGP26-H1* бактерийн бэлдмэлд дэвтээсэн.

Улаан буудайн үрийг тасалгааны хэмд 3 хоног соёолуулан соёолсон үрийг тоолон соёололтын хувийг гаргасан (Manmathan *et al.*, 2013).

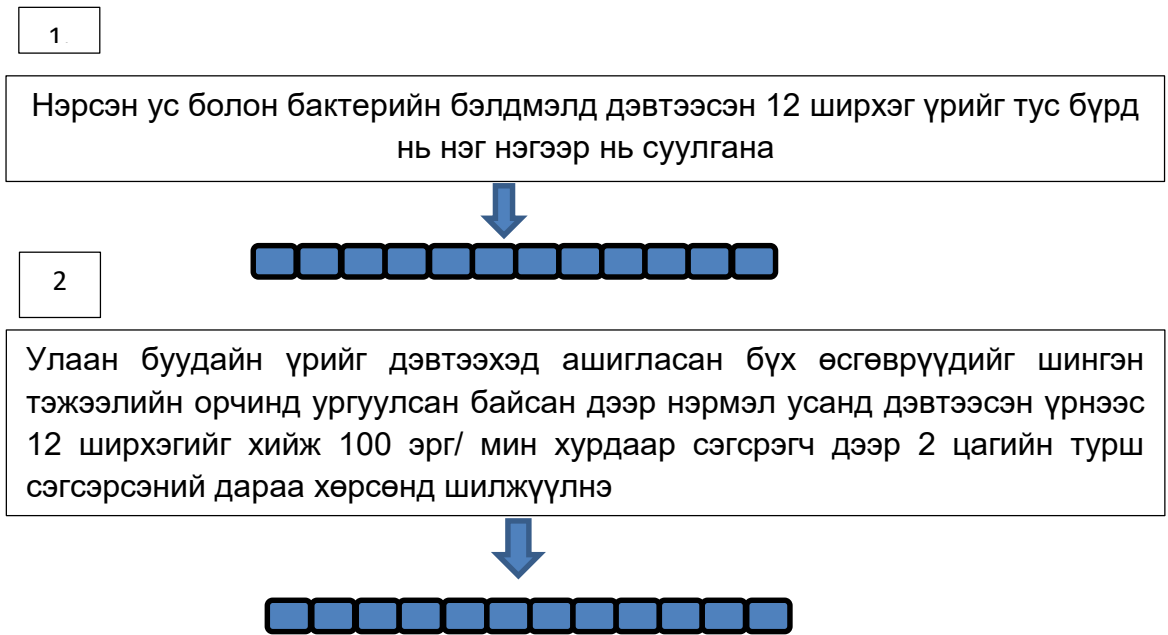
$$\text{Соёололтын хувь \%} = \text{соёолсон үр} \div \text{нийт үр} \times 100$$



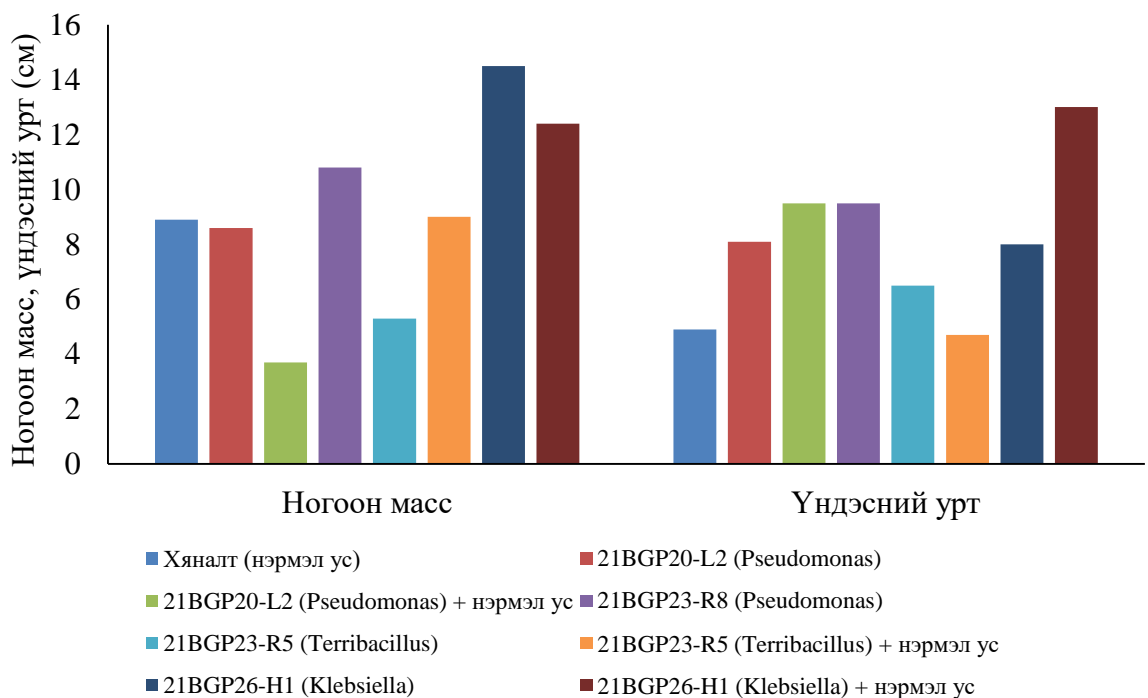
Диagramм 17. Улаан буудайн үрийн соёололт

Ургамлын онцлог шинж чанар, үрийн хадгалалтаас хамааран үр нь таатай нөхцөлд ус шингээж эхэлснээр үрийн соёололт эхэлдэг бөгөөд үр чийгийг шингээх явцад хэлбэрийн өөрчлөлтөнд орж, томордог (Weitbrecht *et al.*, 2011). Бидний туршилтанд ашигласан улаан буудайн үрийн соёололтын хувь харьцангуй бага (6-21%) байсан хэдий ч үр чийгийг шингээж томорсон тул сайтар чийг авч, дөнгөж соёолж байгааг нь сонгон авч хөрс рүү шилжүүлсэн.

Эндофит бактерийн бэлдмэлээр үйлчлэн чийг авч соёолоход бэлэн болсон улаан буудайн (*Triticum aestivum* L.) үрийг хөрсөнд шилжүүлэх туршилтыг 2 янзаар хийсэн.



Улаан буудайн үрийг хөрсөнд шилжүүлсэний дараа 3 хоног тутамд бактерийн бэлдмэл болон нэрсэн усаар сөөлжлөн үйлчилж 14 хоног туршилтыг үргэлжлүүлсэн.



Диаграмм 18. Улаан буудайн ногоон масс, үндэс үүсэлт

ИЦХ нийлэгжүүлж байсан 21BGP20-L2, 21BGP26-H1, 21BGP23-R5 дугаартай бактерийн бэлдмэлээр үйлчилсэн үед улаан буудайн ногоон масс нь гарч, үндэс үүсч байсан. Бусад өсгөврүүд дээр ногоон масс ургаж, үндэс үүсээгүй байсан нь ИЦХ нь ургамлын өсөлтөнд илүү сайн үйлчилж байгааг харуулж байна. Улаан гоёоноос ялган авсан 21BGP26-H1 өсгөвөр нь улаан буудайн ногоон масс, үндэс үүсэлтэд хяналт болгон авсан нэрмэл уснаас илүү сайн үйлчилж байв.

3.4.3.3. Эгэл нарсны (*Pinus sylvestris* L.) үрийн соёололт

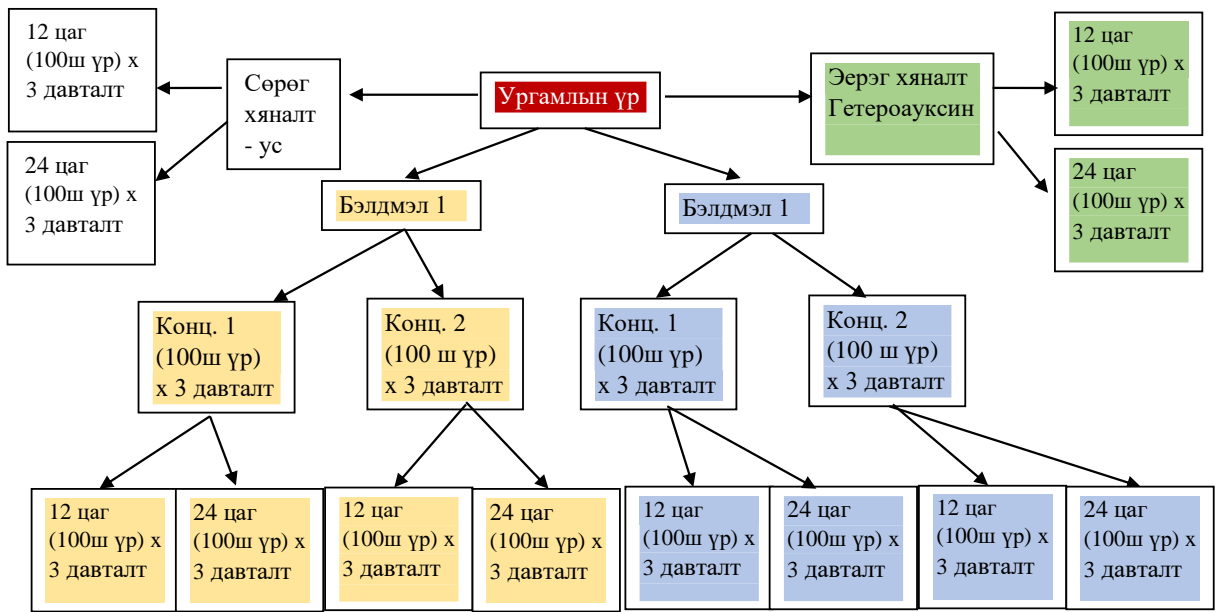
3.4.3.3. Модлог ургамлын үрийн соёололт

Үрийн соёололт нь ургамлын үндэсний системийн гол параметр болдог (Sharma *et al.*, 2015). ИЦХ нийлэгжүүлэх, фосфат, цайр уусгах чадвар болон микробын эсрэг идэвхтэй эндофит бичил биетний модлог ургамлын үрийн соёололтонд үзүүлэх нөлөөг Эгэл нарс (*Pinus sylvestris* L.), Өрөл (*Malus baccata* L.), Жигд (*Elaeagnus moorcroftii* Wall.)-ийн үр дээр туршив. Үүний тулд бактерийн 3, мөөгөнцрийн 3 өсгөврийг сонгон авсан. Бактерийн өсгөврийг үйлчлэх уусмалын 2% (конц 1) ба 0.5%-д (конц 2) байхаар тооцон бэлдсэн. Харин мөөгөнцрийн хувьд 21GP20-S1-1, 21GP23-R1-2, 21GP26-R2-1 өсгөврийн 0.25г/л (конц 1) болон 5г/л (конц 2) концентрацитай ханд болон 21GP20-S1-1 өсгөврийн 0.2мг/л ИЦХ бүхий холимог уусмал ашигласан. Туршилтын үр дүнг Зураг 36-д схемчлэн үзүүлэв.

Үрийн соёололтонд ашигласан өсгөврүүд

Хүснэгт 13.

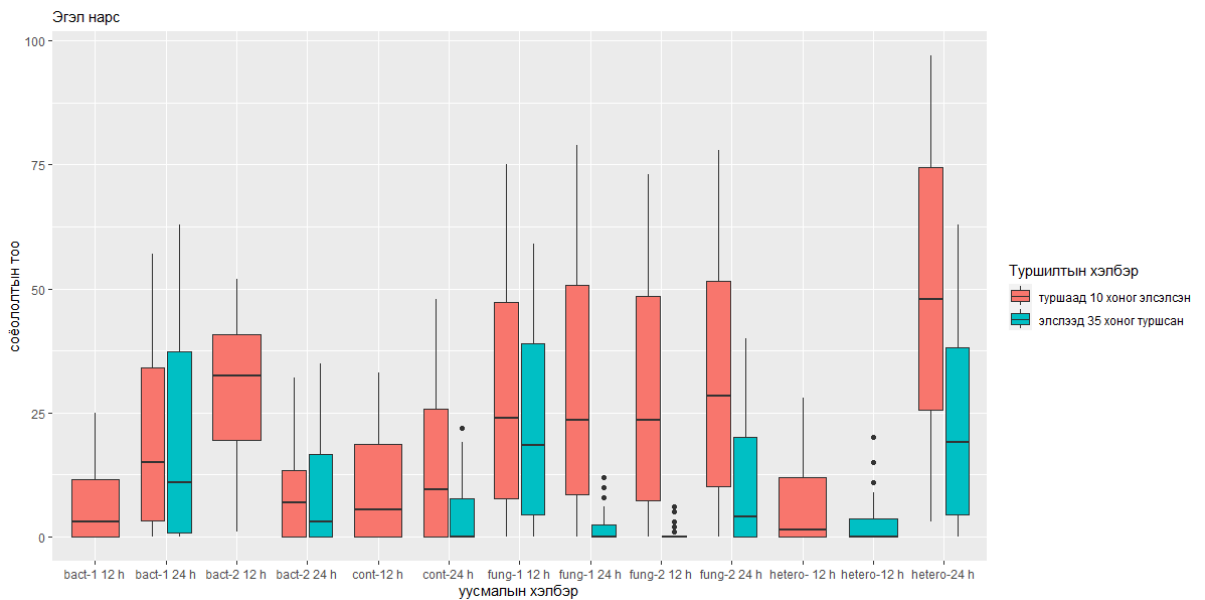
| Өсгөврийн дугаар | Төрөл | Өсгөврийн шинж чанар |
|------------------|---------------------|---|
| 21BGP20-L2 | <i>Pseudomonas</i> | Индол цууны хүчил нийлэгжүүлдэг |
| 21BGP20-F1 | <i>Bacillus</i> | Микробын эсрэг идэвхтэй |
| 21BGP26-H1 | <i>Klebsiella</i> | Индол цууны хүчил нийлэгжүүлдэг, фосфат, уусгах чадвартай |
| 21GP20-S1-1 | <i>Fusarium</i> | Микробын эсрэг идэвхтэй, индол цууны хүчил нийлэгжүүлдэг, |
| 21GP23-R1-2 | <i>Clonostachys</i> | Микробын эсрэг идэвхтэй |
| 21GP26-R2-1 | <i>Fusarium</i> | Микробын эсрэг идэвхтэй |



Зураг 36. Модлог ургамлын үрэнд бактери, мөөгөнцрийн бэлдмэл турших схем

Дээрх схемээр эгэл нарсны үр дээр нэмж 2 янзаар туршсан. Үүнд:

- А) эгэл нарсны үрийг схемийн дагуу үйлчлээд 10 хоног элсэлсний дараа хөрсөнд шилжүүлэн суулгасан (цаашид А туршилт гэх)
- Б) эгэл нарсны үрийг 35 хоног элсэлсний дараа схемийн дагуу үйлчлээд хөрсөнд суулгасан (цаашид Б туршилт гэх)

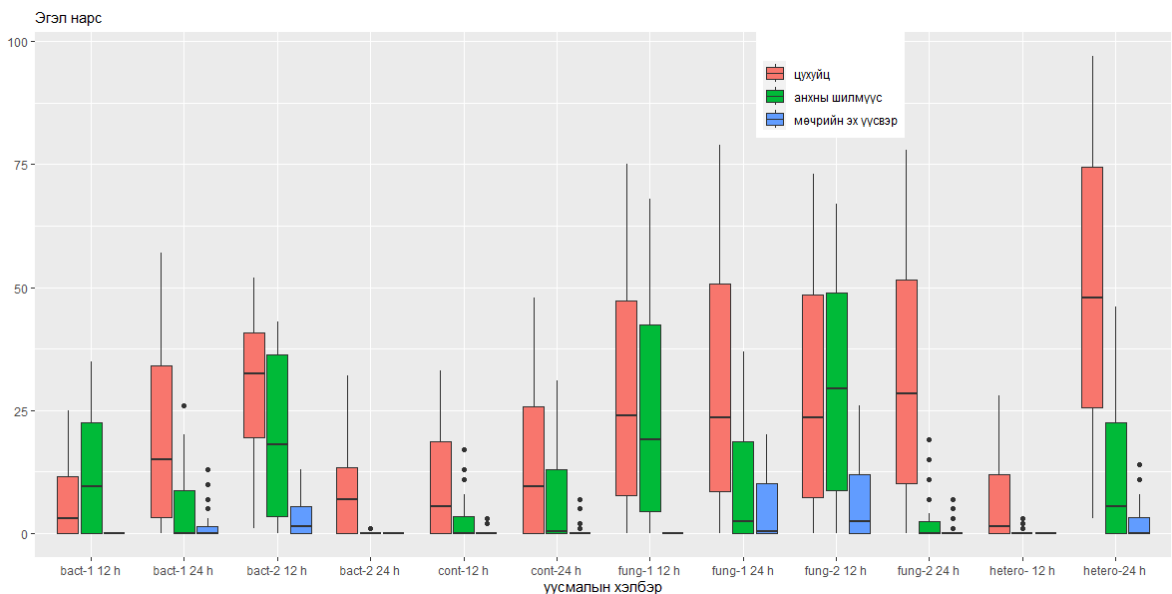


Зураг 37. Эгэл нарсны үрийн соёлолтыг А ба Б туршилтаар харьцуулсан нь

Бэлдмэлүүд А болон Б туршилтын хоёуланд нь эгэл нарсны үрийн соёололтонд эерэг нөлөө үзүүлснийг (зураг 37) харж болно. Үүний дотор А туршилтын үрнүүд Б туршилтаас 20%-иар илүү соёолон ургасан байна.

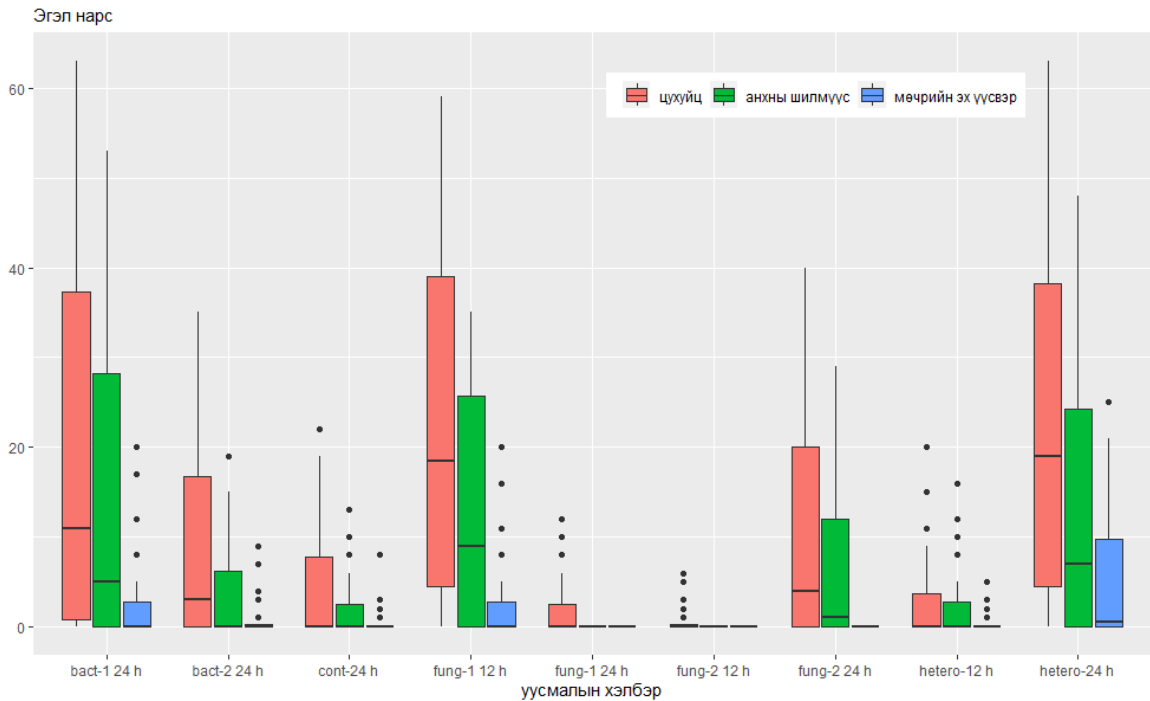
А туршилтын эерэг хяналтын 24 цагийн хувилбар нь нарсны үрийн соёололтыг хамгийн их дэмжсэн буюу $42.2 \pm SE6.2$ ($p \leq 0.009$). Сөрөг хяналттай харьцуулахад бактерийн 2-р концентрацийн (0.5%-ийн бактерийн суспенз) 24 цагийн хувилбараас ($2.7 \pm SE6.2$) бусад бэлдмэлийн хувилбарууд эерэг нөлөө үзүүлсэн. Үүнийг хувиар илэрхийлбэл, бактери, мөөгөнцрийн бэлдмэл ба гетероауксинаар идэвхжүүлсэн үр нь сөрөг хяналт болох усанд дэвтээсэн үрнээс 30-49% илүү соёолох чадварыг үзүүлсэн.

Соёололтын дараа анхны шилмүүс болон мөчрийн эх үүсвэрийг тоолж боловсруулалт хийв. Эгэл нарсны цухуйц бүрээс гарч байгаа анхны шилмүүс болон мөчрийн эх үүсвэрийн тоо нь $11.75 \pm SE2.9$ болон 1.6 ± 8.5 тус тус байна. Гетероауксины 24 цагийн хувилбар үрийн соёололтонд хамгийн өндөр үзүүлэлттэй байсан хэдий ч анхны шилмүүсний тоо (1.3 ± 4.1) нь бусад бэлдмэлийн хувилбараас бага байв. Тухайлбал, мөөгөнцрийн хандны 2-р концентрацийн (5г/л) 24 цагийн хувилбарт 17.7 ± 4.1 , 1-р концентрацийн (2.5г/л) 12 цагийн хувилбарт 13.5 ± 4.1 болон бактерийн 2-р концентрацийн (0.5%) 12 цагийн хувилбарт $7.7 \pm SE4.1$ ширхэг анхны шилмүүс гарсан байна.



Зураг 38. Эгэл нарсны А туршилтын үрийн соёололт, анхны шилмүүс болон мөчрийн эх үүсвэр

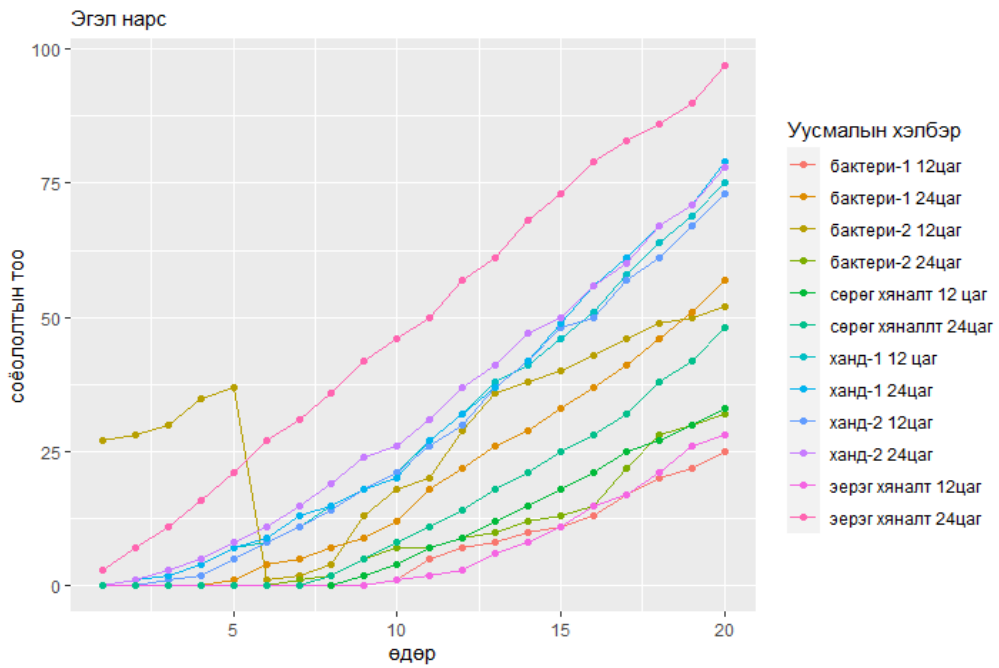
Мөчрийн эх үүсвэр нь мөөгөнцрийн 2-р концентрацийн (5г/л) 24 цагийн хувилбарт хамгийн их буюу 8 ± 1.2 ширхэг байна.



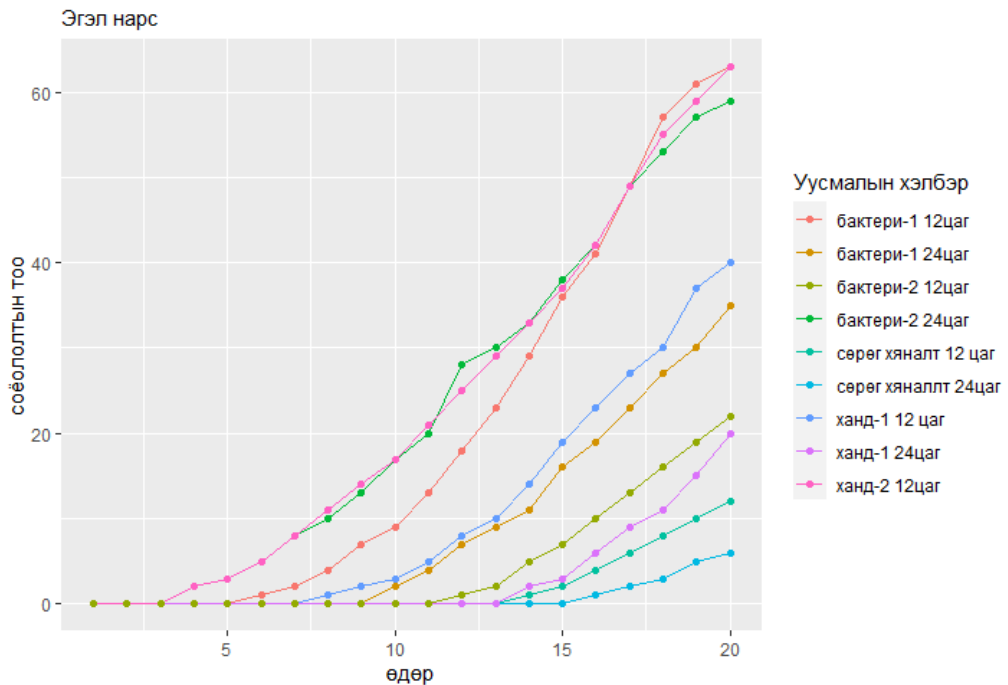
Зураг 39. Эгэл нарсны Б туршилтын үрийн соёлолт, анхны шилмүүс болон мөчрийн эх үүсвэр

Б туршилтын эгэл нарсны цухуйц бүрээс гарч байгаа анхны шилмүүс ба мөчрийн эх үүсвэрийн тоо нь $15.4 \pm SE2.3$ ба 3.2 ± 0.9 тус тус байв. Мөн бактерийн 2-р концентрацийн 24 цагийн хувилбар болон мөөгөнцрийн 1-р концентрацийн 24 цагийн хувилбарт -11.6 ± 3.2 болон -15.4 ± 3.2 ширхэг тус тус ургасан байна.

Үрийн соёолох чадвар нь үрийн чанараас хамаардаг тул бэлдмэлүүдийн үрийн соёололтонд үзүүлэх нөлөөг үзэгдэлзүйн ажиглалтаар судалж үр дүнг боловруулав. А туршилтын бэлдмэлээр үйлчилсэн хувилбарт эгэл нарсны үрийн соёололт нь 2.9 ± 0.1 өдрөөс эхэлсэн байна. А туршилтын үрийн соёололт ажиглалтыг хувилбар тус бүрээр нь харьцуулахад гетероауксины 24 цагийн хувилбарт үрийн соёололт хамгийн их буюу 97% байсан хэдий ч 12 цагийн хувилбарт нь 26% буюу сөрөг хяналттай ойролцоо үр дүнтэй байв (зураг 40). Харин мөөгөнцрийн 1, 2-р концентрацийн (5г/л) 12, 24 цагийн хувилбарт бүгд жигд 74-80% соёололттой, 2 өдрийн дараа цухуйц үзэгдэж эхэлсэн нь сөрөг хяналттай харьцуулахад соёололтыг дунджаар 5 өдрөөр хурдасгаж байсан.



Зураг 40. А туршилтын үрийн соёололтын 20 хоногийн үзэгдэлзүй



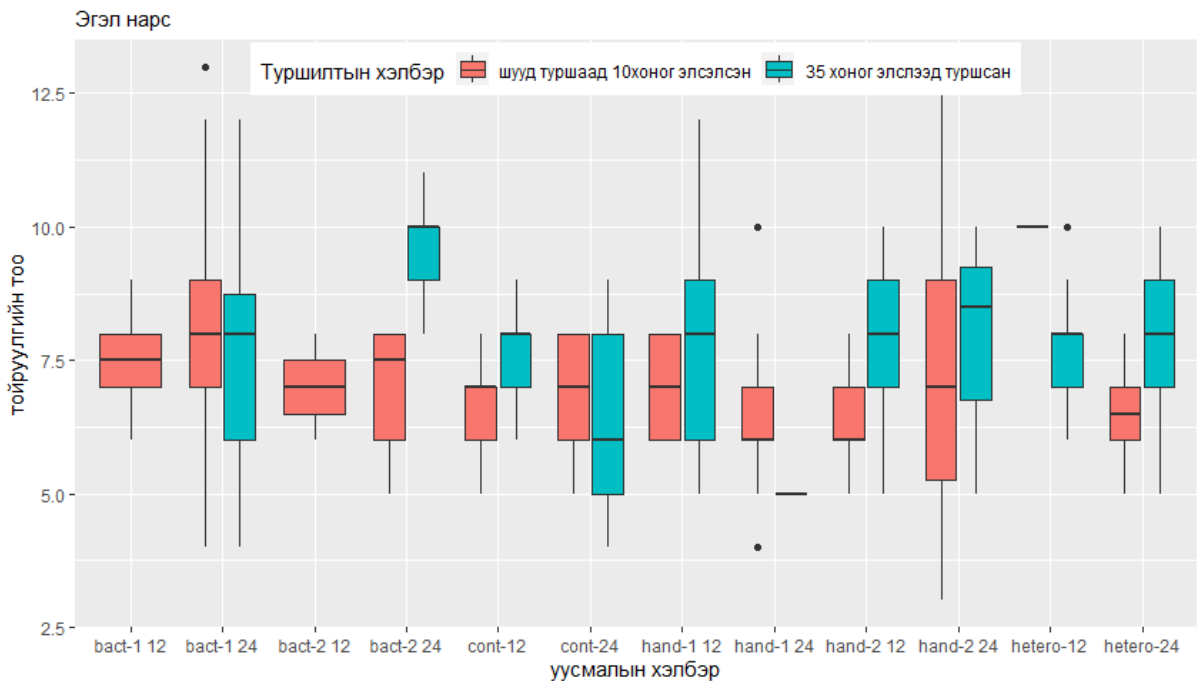
Зураг 41. Б туршилтын үрийн соёололтын 20 хоногийн үзэгдэлзүй

Б туршилтын бэлдмэлээр үйлчилсэн хувилбарт эгэл нарсны үрийн соёололт нь 1.8 ± 0.1 өдрөөс эхэлсэн. Б туршилтын үрийн соёололт ажиглалтыг хувилбар тус бүрээр нь харьцуулахад бактерийн 1-р концентрацийн (2.0%) 12 цаг, хандны 2-р концентрацийн (5г/л) 12 цаг, бактерийн 2-р концентрацийн (0.5%) 24 цагийн хувилбарт үрийн соёололт хамгийн их буюу 58-63% байна.

Туршилтын үрнээс ургасан ургамлын өсөлт хөгжил

Хаврын туршилтын үрнээс ургасан ургамлын өсөлт хөгжлийг намар 10 сард хэмжилт хийж үр дүнг боловсруулан бэлдмэлийн үр дүнг тодорхойлов.

А. Эгэл нарсны (*Pinus sylvestris L.*) тойруулгын хэмжилт

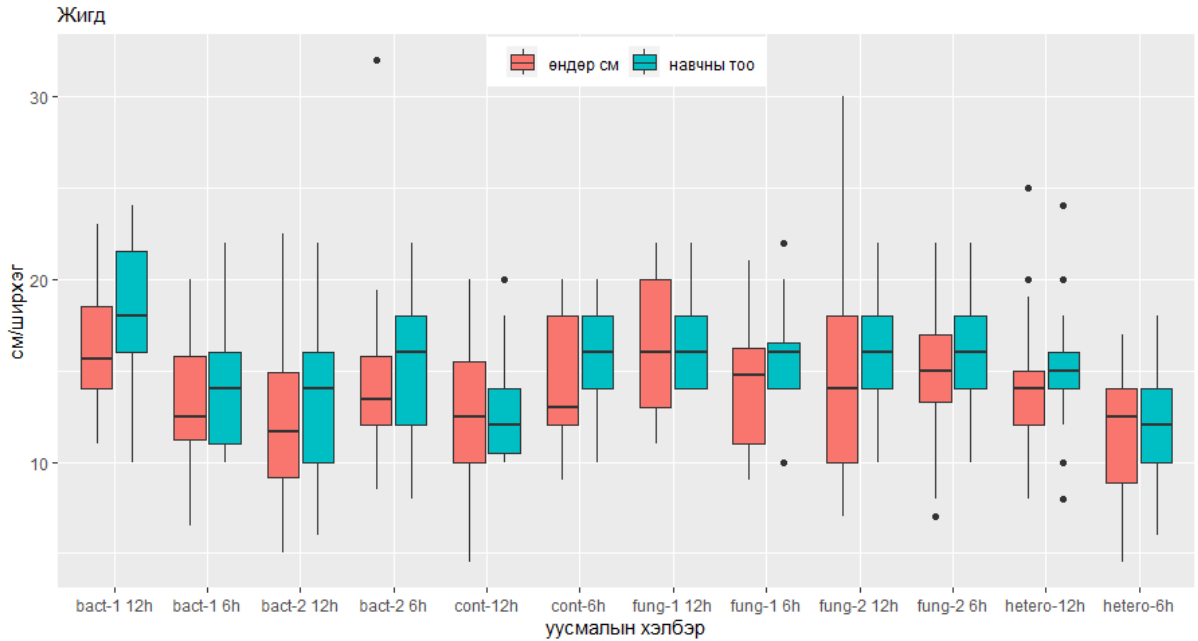


Зураг 42. А болон Б туршилтын эгэл нарсны тойруулгын тоон харьцуулалт

А болон Б туршилтын эгэл нарсны өндрийг хооронд нь хувилбар тус бүрээр нь харьцуулав. Дундаж эгэл нарсны тойруулгын тоо нь А туршилт нь (7.6 ± 0.7) болон Б туршилт нь (7.6 ± 0.3) -тай тус тус ургасан байна. Мөн А болон Б туршилтуудын бэлдмэлийн хувилбар бүрт нарсны тойруулгын тоог харьцуулахад (F-statistic: 1.303 on 11 and 102 DF, p-value: 0.233) буюу (F-statistic: 3.526 on 9 and 158 DF, p-value: 0.0005238) статистикийн хувьд ялгаатай байв (зураг 41). Үүнээс үзэхэд А болон Б туршилтын бактери болон мөөгөнцрийн бэлдмэлээр идэвхижүүлсэн эгэл нарсны тойруулгын тоо нь ойролцоо үр дүн үзүүлсэн байна. Харин сөрөг хяналттай харьцуулахад бактерийн 1 ба 2-р концентрацийн (0.5% болон 2.0% бактерийн суспенз) 12 ба 24 цаг (А болон Б туршилт дээр), мөөгөнцрийн 1-р концентрацийн (2.5г/л) 12 цаг, 2-р концентрацийн (5.0г/л) бэлдмэлээр 12 ба 24 цаг идэвхжүүлсэн хувилбарт тойруулгын тоо харьцангуй их байна. Өвөлжилтийн дараах өндрийн хэмжилтийг мөн хийж, тарьцийн өсөлт

хөгжилт буюу өндөр, навчны тоо болон өвөлжилтийн дараах ургалтын өндрийн үр дүнг нэгтгэхэд бактери болон мөөгөнцрийн бэлдмэлээр идэвхижүүлсэн эгэл нарс сөрөг хяналтаас 3-4 см-ээр илүү өндөр ургасан байв.

Б. Жигд (*Elaeagnus moorcroftii* Wall.) өндөр болон навчны тоо

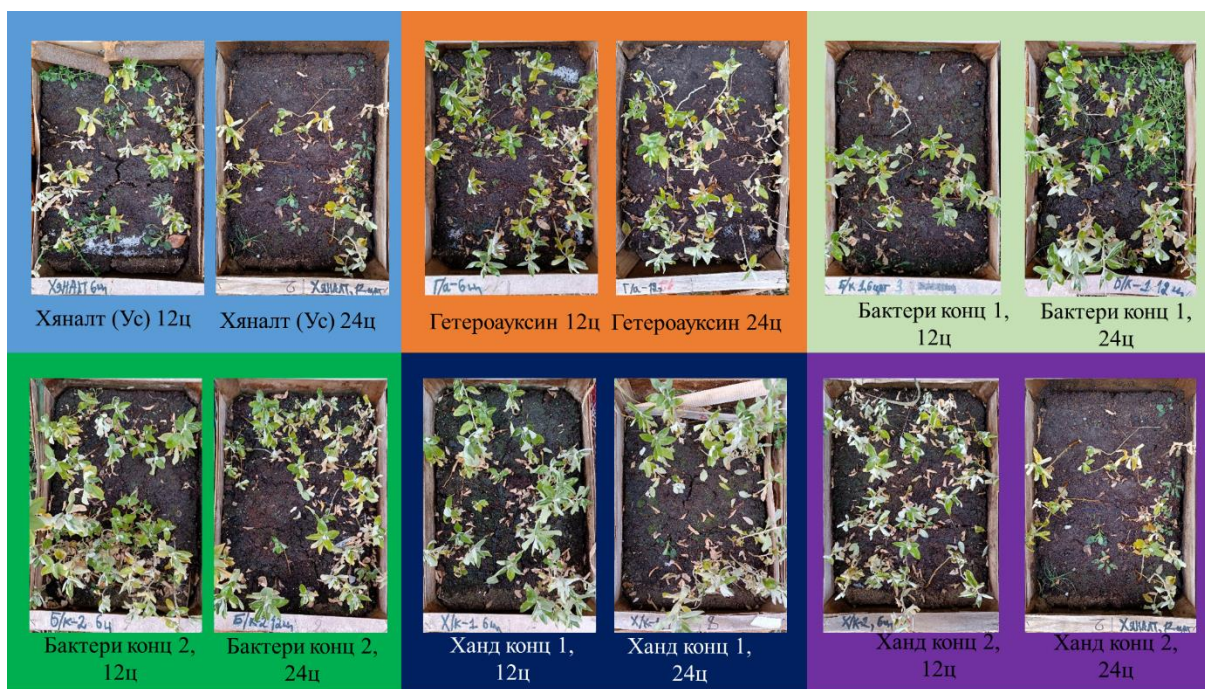


Зураг 43. Жигдний өндөр болон навчны тоо

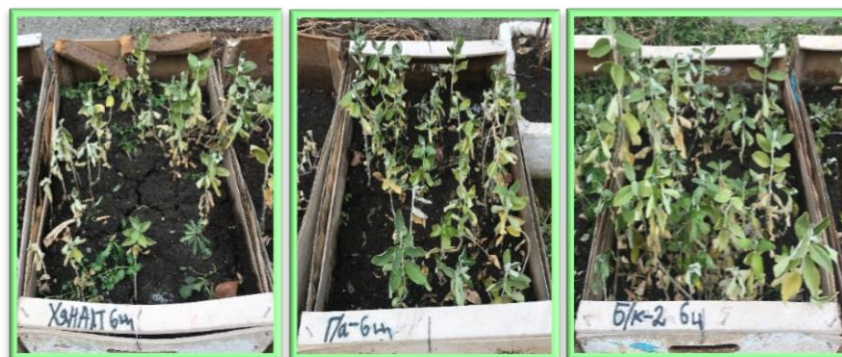
Жигдний өндрийг бэлдмэлийн хувилбар хооронд харьцуулж үзэхэд $F=3.8$, $df=11$, $p \text{ value} \leq 0.0002$ буюу статистикийн хувьд ялгаатай байна. Мөн бактерийн 1-р концентрацийн (2.0%-ийн бактерийн суспенз) бэлдмэлээр 12 цаг, мөөгөнцрийн 1-р концентрацийн (2.5г/л) бэлдмэлээр 12 цаг идэвхижүүлэн тарьсан ургамлын өндөр нь статистикийн хувьд ач холбогдолтой буюу бусдаасаа 2-4 см-ээр өндөр ургасан байна.

Харин жигдний навчны тоо нь $F=6.7$, $df=11$, $p \text{ value} \leq 0.0003$ буюу статистикийн хувьд ялгаатай байна. Бактерийн 1-р концентрацийн (2.0%-ийн бактерийн суспенз) бэлдмэлээр 12 цаг идэвхижүүлэн тарьсан жигдний навчны тоо нь бусдаасаа 6-8 ширхэгээр илүү ургалттай байв. Мөн жигдний өндөр болон навчны тоо нь харилцан хамааралтай буюу 0.56 байна. Үүнээс үзэхэд жигдний гол нь өндөр байхад навчны тоо олон байна.

Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа



А



Б

Хяналт (Ус) 12ц Гетероауксин 12ц Бактери конц 2, 12ц

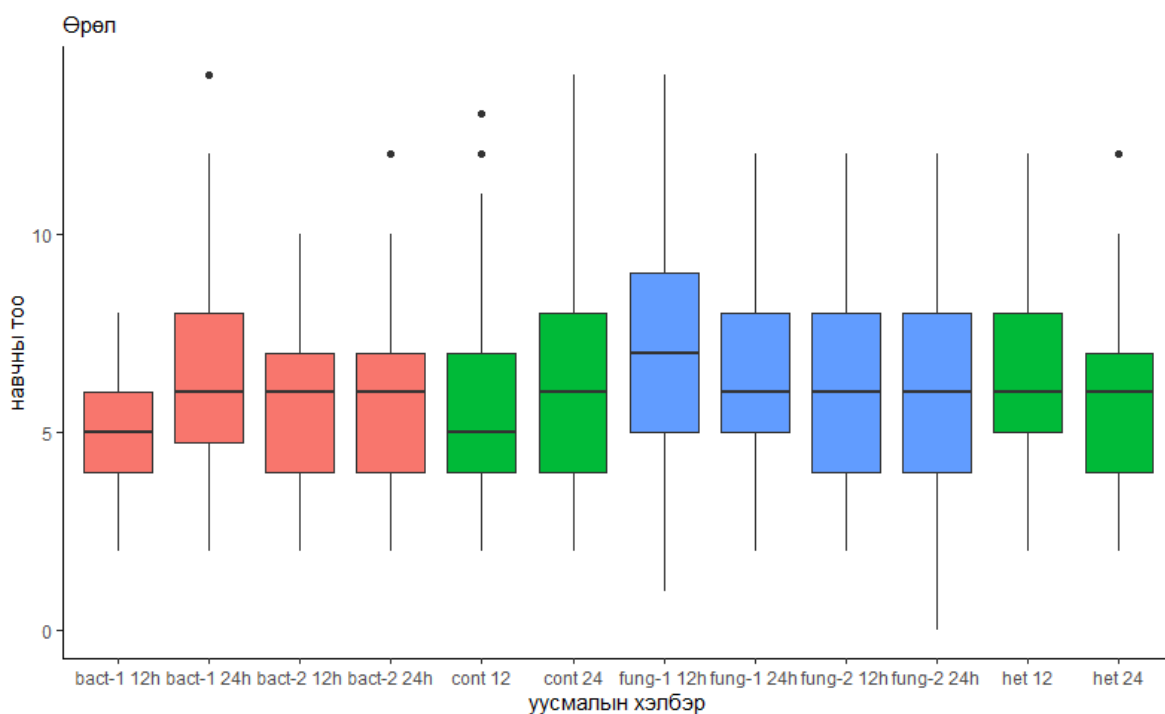
Зураг 44. Жигдний ургалт хувилбар тус бүрээр

А. Дээрээс авсан зураг, Б. Зарим хувилбарыг хажуугаас авч өндрийг харьцуулсан нь

* - 6 болон 12 цаг үйлчлэхээр хайрцгаа тэмдэглэсний дараа 12 болон 24 цагаар үйлчилж туршсан тул хайрцаг дээрх 6 цаг нь 12 цаг, 12 цаг нь 24 цагийн хувилбар юм.

Жигдний өндөр болон навчны тооноос гадна цухуйцаас цааш ургамал болон ургасан тоонд бэлдмэлийн нөлөө илүү харагдаж байв (зураг 44).

В. Өрөл (*Malus baccata* L.) модны навчны тоо



Зураг 45. Өрөл модны навчны тоо

Өрөл модны навчны тоо нь $F = 9.5$, $df = 11$ ба $p \text{ value} \leq 0.002$ буюу статистикийн хувьд бага ялгаатай байна. Дундаж навчны тоо нь 5.2 ± 0.2 ширхэг байна.

Өрөл модны тарьцанд мөөгөнцөрийн 1-р концентрацийн 12 цагийн хувилбарт 1-2 навч илүү ургасан байна.

Дээрх 3 ургамлын үр дүнгээс харахад модны зүйлээсээ хамаараад бактери болон мөөгөнцөрийн бэлдмэл нь өөр өөр нөлөө үзүүлж байна. Шилмүүс модны төлөөлөл болох эгэл нарсны соёлолт болон тарьцны өсөлт хөгжилд бактери ба мөөгөнцөрийн бэлдмэлүүд нь бүгд эерэг үр дүн үзүүлсэн боловч үүнийг цаашид дахин нарийн судлах шаардлагатай. Харин навчит мод болох өрөл ба жигд модыг бактери болон мөөгөнцөрийн бэлдмэлийн бага концентрациар идэвхжүүлэн тарьвал илүү үр дүнтэй гэж үзэж байна.

ҮР ДҮНГИЙН ХУРААНГУЙ

1. Нөмрөгт банздоо (*Saussurea involucrata* Kar. et Kir.), Эгэл өмхий өвс (*Peganum harmala* L.), Төвд ланцай (*Lancea tibetica*), Монгол алтан хундгана (*Adonis mongolica*), Шар саадган цэцэг (*Cypripedium calceolus* L.), Гурвалсан шүр үндэс (*Corallorhiza trifida* Chatel.), Эгэл годил (*Acorus calamus*), Цагаан цээнэ (*Paeonia lactiflora*) 8 зүйл нэн ховор ургамал, Зүүнгарын гоёо (*Cynomorium songaricum*), Пржевальскийн зээргэнэ (*Ephedra przewalskii* Stapf.), Урал чихэр өвс (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch. ex DC.), Ягаан цээнэ (*Paeonia anomala* L.), Их шүүдэргэнэ (*Chelidonium majus*), Үнэгэн сүүлхэй лидэр (*Sophora alopecuroides* L.) 6 зүйл ховор ургамал Ганга өвс (*Thymus* sp.) 1 зүйл элбэг боловч ашиглалтанд өртөмтгий ургамал буюу нийт 15 зүйл эмийн ургамлын 18 дээжнээс эндофит мөөгөнцөр, бактери, актиномицет, дрожжийн 358 өсгөвөр ялган цэвэршүүлж, *ex-situ* хадгалав.
2. Микробын эсрэг идэвх, ургамлын өсөлт дэмжих чадвар зэрэг ашигт шинж чанартай мөөгөнцөр, бактери, актиномицет, дрожжийн өсгөврүүдийг сонгон геномын ДНХ-г ялган, бактери, актиномицетийн 16S рРНХ ген, мөөгөнцөр, дрожжийн ITS болон 28S рРНХ генийн D1/D2 домейны хэсгийг ПГУ-аар олшруулан, секвенс хийж нийт 103 өсгөврийн ангилалзүйн хамаарлыг тодорхойлсон.
3. Секвенсийн аргаар тодорхойлсон үр дүнгээр мөөгөнцрийн 62 өсгөвөр 14 төрөлд, дрожжийн 11 өсгөвөр 6 төрөлд, бактерийн 28 өсгөвөр 9 төрөлд, актиномицетийн 2 өсгөвөр 2 өөр төрөлд тус тус хамаарагдаж байна.
4. Тэдгээрийн дотор мөөгөнцрийн 9, дрожжийн 4, бактерийн 2 өсгөвөр шинжлэх ухаанд шинэ зүйл болох магадлалтай байна. Мөн мөөгөнцрийн *Coniolaria*, *Sporormiella*, *Pithoascus*, дрожжийн *Eremothecium*, бактерийн *Klebsiella*, *Alcaligenes* нийт 6 төрлийг Монголд шинээр тэмдэглэлээ.
5. Эдгээр нуклеотидын дарааллыг INSD (International Nucleotide Sequence Database, DDBJ/EMBL/GenBank) буюу олон улсын генбанкуудын нэгдсэн өгөгдлийн санд бүртгүүлж, LC663160- LC663182, LC769412- LC769454, LC769456, LC769459-LC769494 бүртгэлийн дугаар (accession number) авав.

6. Төслийн хүрээнд ялгасан эндофит бичил биетний 358 цэвэр өсгөврийг зориулалтын шингэн бүхий түбэнд -80°C хэмд гүн хөлдөөгчинд хадгалж, өсгөврийн сан буюу биет материалын сан хөмрөг бүрдүүлсэн.
7. Тэдгээрийн ангилалзүй, биологийн идэвхийн мэдээллийн санг бүрдүүлж, мэдээллийг дэлхийн “Бичил биетний глобал каталог”-д байршуулсан.
8. Бичил биетний өсгөврүүдийн микробын эсрэг идэвхийг 5 тест организм: Грам сөрөг бактери *Escherichia coli*, Грам эерэг бактери *Staphylococcus aureus*, Грам эерэг, спор үүсгэгч бактери *Bacillus subtilis*, дрожж *Candida albicans*, мөөгөнцөр *Aspergillus niger* дээр туршихад 108 өсгөвөр аль нэг тест өсгөврийн өсөлтийг дарангуйлах идэвхтэй байсны дотор *E. coli*-ийн эсрэг 18, *S. aureus*-ийн эсрэг 52, *B. subtilis*-ийн эсрэг 51, *C. albicans*-ийн эсрэг 19, *A. niger*-ийн эсрэг 53 өсгөвөр (давхардсан тоогоор) идэвхтэй байв.
9. Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвар болох өсөлтийн гормон болох индол цууны хүчил (ИЦХ) нийлэгжүүлэх, фосфат болон цайр уусгах чадварыг туршин ИЦХ нийлэгжүүлэгч 118, фосфат уусгагч 121, цайр уусгах чадвартай 100 өсгөврийг олж тогтоов.
10. Микробын эсрэг өндөр идэвхтэй мөөгөнцрийн 4 өсгөврийг сонгож, мөөгөнцрийн мицеллийн болон өсгөврийн шингэнийг этилацетатаар хандлан өтгөрүүлсэн ханд бэлтгэж, хандны микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлж, идэвхтэй ханднаас бэлдмэлийн нимгэн үеийн хроматограммын аргаар нийт 31 цэвэр бодис ялган авсан.
11. Тэдгээрээс эх хандны 5 тест организмын эсрэг үзүүлсэн үр дүн дээр тулгуурлан нийт 24 бодисын микробын эсрэг идэвхийг тодорхойлж, Нөмрөгт банздооноос ялгасан *Fusarium* төрөлд хамаарах P20-S1-1 өсгөврийн өсгөврийн шингэний P20S ханднаас ялгасан 1,2,4 дугаартай бодисууд *E. coli*, *B. subtilis*-ийн эсрэг идэвхтэй, мицелийн P20M хандны 5 дугаартай бодис *B. subtilis*-ийн эсрэг идэвхтэй болохыг тогтоов.
12. P20-S1-1 өсгөврийн P20S ба P20M нийлмэл ханд болон түүнээс ялгасан микробын эсрэг идэвхтэй 4 цэвэр бодисыг Молекул нетворкинг (Molecular networking) аргаар тодорхойлж, нийлмэл ханданд оксиспородинон хэмээх ургамлын өвчин үүсгэгч мөөгөнцрүүдийн эсрэг үйлчилгээтэй бодис болон түүний 5 шинэ аналог, изоскополетин хэмээх цусны цагаан эсийн хавдрын эс, олон антибиотикт тэсвэртэй CEM/ADR5000 шугаман эсийг дарангуйлах

идэвхтэйгээс гадна элэгний гепатит В вирус (HBV)-ийн репликацийг дарангуйлах чадвартай бодис болон түүний 5 шинэ аналог илрүүлэв. Цаашилбал, нийлмэл ханд болон 4 цэвэр бодис тодорхойлсон үр дүнгээр P20-S1-1 өсгөврийн нийлэгжүүлж буй гол бодис нь цагираг бүтэцтэй пептидүүд бөгөөд эдгээрийн дотор бактери, мөөгөнцрийн эсрэг үйлчилгээтэй, гербицид, пестицид шинж чанартай энниатин В, антибиотик чанартай төдийгүй зарим хавдрын шугаман эсийг дарангуйлах идэвхтэй энниатин А бодис байв. Уг ханданд 80 гаруй цагираган пептид байгаагаас 8 нь одоогоор мэдэгдэж буй энниатинууд бусад нь шинэ аналогууд байгаа нь шинжлэх ухааны төдийгүй практик ач холбогдол асар өндөр үр юм.

13. Эгэл нарсны үрийг бактери ба мөөгөнцрийн бэлдмэлээр үйлчлээд 10 хоног элсэлсний дараа хөрсөнд шилжүүлэн суулгасан А туршилтын үрнүүд Б буюу үрийг 35 хоног элсэлсний дараа үйлчлээд хөрсөнд суулгасан туршилтаас 20 хувиар илүү соёолсон төдийгүй үзэгдэлзүйн ажиглалтаар түрүүлж соёолж байв. Бактери, мөөгөнцрийн бэлдмэл ба гетероауксинаар идэвхжүүлсэн үр нь сөрөг хяналт болох усанд дэвтээсэн үрнээс 30-49% илүү соёолох чадварыг үзүүлсэн ба үзэгдэлзүйн ажиглалтаар соёололтыг 4-5 хоногоор хурдасгаж байв.
14. Цухуйц, анхны шилмүүс, мөчрийн эх үүсвэрийг тоолж боловсруулалт хийхэд гетероауксины 24 цагийн хувилбарын цухуйцын тоо хамгийн өндөр үзүүлэлттэй хэдий ч анхны шилмүүсний тоо (1.3 ± 4.1) нь бусад бэлдмэлээс бага байв. Тухайлбал, мөөгөнцрийн хандны 2-р концентрацийн (5г/л) 24 цагийн хувилбарт 17.7 ± 4.1 , 1-р концентрацийн (2.5г/л) 12 цагийн хувилбарт 13.5 ± 4.1 болон бактерийн 2-р концентрацийн (0.5%) 12 цагийн хувилбарт $7.7 \pm SE 4.1$ ширхэг анхны шилмүүс гарч, мөчрийн эх үүсвэр нь мөөгөнцрийн 2-р концентрацийн 24 цагийн хувилбарт хамгийн их (8 ± 1.2) ширхэг байна.
15. Нарс, жигд, өрөл дээрх туршилтаар модны төрөл зүйлээс хамаарч бактери, мөөгөнцрийн бэлдмэлийн нөлөө өөр өөр байв. Шилмүүст модны төлөөлөл болох эгэл нарсны соёололт болон тарьцны өсөлт хөгжилд бактери, мөөгөнцрийн бэлдмэлүүд бүгд эерэг үр дүн үзүүлсэн ба үүнийг цаашид дахин нарийн судлах шаардлагатай. Харин навчит мод болох өрөл, жигдийг бэлдмэлийн бага концентрациар идэвхжүүлэн тарьвал илүү үр дүн үзүүлсэн.

ДҮГНЭЛТ

1. Монгол орны устаж буй, ховор болон ашиглалтад хэт өртөж буй 15 зүйл эмийн ургамлаас эндофит бактери, актиномицет, дрожж, мөөгөнцрийн 358 цэвэр өсгөвөр ялган авч, *ex-situ* хадгалж, 103 өсгөврийг генийн түвшинд тодорхойлж, олон улсын генбанкны нэгдсэн системийн сан-д бүртгүүлж дугаар авсан нь Монгол орны бичил биетний олон янз байдлын талаар шинэ мэдлэг, мэдээлэл бий болгоод зогсохгүй БОЯБ-ыг тодорхойлох, хамгаалах олон улсын гэрээ, конвенциор хүлээсэн үүргийг биелүүлэхэд хувь нэмэр болох үр дүн юм.
2. Төслийн хүрээнд ялгасан эндофит бичил биетний 358 цэвэр өсгөврийг зориулалтын шингэн бүхий түбэнд -80°C хэмд гүн хөлдөөгчинд хадгалж, өсгөврийн сан буюу биет материалын сан хөмрөг бүрдүүлснээр БОЯБ, генетик нөөцийг тогтвортой ашиглах нөхцлийг бүрдүүлэв. Мөн тэдгээрийн ангилалзүй, биологийн идэвхийн мэдээллийн санг бүрдүүлж, мэдээллийг дэлхийн “Бичил биетний глобал каталог”-д байршуулснаар манай орны микробиологийн шинжлэх ухааны түвшинг сурталчилж, олон орны эрдэмтэдтэй хамтарсан судалгааны эхлэл тавигдах, генетик нөөц эдийн засгийн эргэлтэд орох боломжтой болов.
3. Микробын эсрэг идэвхтэй бичил биетний 108 өсгөвөр, ургамлын өсөлтийн гормон болох индол цууны хүчил (ИЦХ) нийлэгжүүлэгч 118, фосфат уусгагч 121, цайр уусгах чадвартай 100 өсгөврийг олж тогтоосон нь эндофит бичил биетний талаар шинэ мэдлэг болж, цаашид эдгээр ашигт шинж чанарт суурилсан хэрэглээний судалгааны суурь материал болно.
4. Нөмрөгт банздооноос ялгасан, микробын эсрэг өндөр идэвхтэй мөөгөнцрийн *Fusarium* P20-S1-1 өсгөвөр нь бактери, мөөгөнцрийн эсрэг үйлчилгээтэй, гербицид, пестицид шинж чанартай, зарим хавдрын шугаман эсийг дарангуйлах идэвхтэй энниатинууд болон түүний 70 орчим шинэ аналог, ургамлын өвчин үүсгэгч мөөгөнцрүүдийн эсрэг үйлчилгээтэй оксиспородинон болон түүний 5 шинэ аналог, цусны цагаан эсийн хавдрын эс, олон антибиотикт тэсвэртэй CEM/ADR5000 шугаман эс, элэгний гепатит В вирусийн репликацийг дарангуйлах идэвхтэй изоскополетин болон түүний 5 шинэ аналогийг нийлэгжүүлж байгааг орчин үеийн дэвшилтэт

Молекул нетворк аргаар олж тогтоосон нь шинжлэх ухааны төдийгүй асар өндөр практик ач холбогдолтой юм. Энэ судалгаа нь манай орны эндофит мөөгөнцрөөс бодис ялгах, тодорхойлох анхны ажил бөгөөд манай бичил биетнүүд арвин генетик нөөцтэй болохыг харуулж чадлаа.

5. Судалгаагаар олж илрүүлсэн ургамлын өсөлтийн гормон нийлэгжүүлэх, уусдаггүй эрдсийг уусгах чадвартай бичил биетний өсгөврүүдийг ашиглан бэлдмэл хийж модлог ургамлын үрэн дээр туршсан үр дүнгээр эдгээр бэлдмэлүүд Эгэл нарсний үрийн сёололтын хувийг нэмэгдүүлж, хугацааг богиносгох, анхны шилмүүс ба мөчрийн эх үүсвэрийг нэмэгдүүлэх, өрөл ба жигдний үрийг бэлдмэлийн бага концентрациар идэвхжүүлэн тарихад өндөр, навчны тоог нэмэгдүүлэх үйлчилгээ үзүүлж буйг тогтоосон. Энэ нь “Тэрбум мод үндэсний хөдөлгөөн”-д хувь нэмэр оруулах бүтээгдэхүүний суурь болох бөгөөд цаашид судалгааг нарийвчлан хийж, бэлдмэлийг бүтээгдэхүүн болгох технологийн судалгаа хөгжүүлэлт хийх зайлшгүй шаардлагатай байна.

Ашигласан бүтээл

- Adams, M., Efferth, T., Bauer R. (2006). Activity-guided isolation of scopoletin and isoscopoletin, the inhibitory active principles towards CCRF-CEM leukaemia cells and multi-drug resistant CEM/ADR5000 cells, from *Artemisia argyi*. *Planta Med.* 2006 Jul;72(9):862-4.
- Adiyadolgor, T., Enkh-Amgalan, J., Vágvölgyi Cs., Szekeres, A. (2018). Antimicrobial activity of endophytic fungi isolated from *Sophora flavescens*. XVIth Wellmann International Scientific Conference. May 9, 2018. Szeged, Hungary.
- ALKahtani, M.D.F., Fouda, A., Attia, K.A., Al-Otaibi, F., Eid, A.M., Ewais, E.E.-D., Hijri, M., St-Arnaud, M., Hassan, S.E.-D., Khan, N., Hafez, Y.M., Abdelaal, K.A.A. (2020). Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria from Desert Plants and Their Application as Bioinoculants for Sustainable Agriculture. *Agronomy* 2020, 10, 1325.
- Ando, K. (2014). Identification of mitosporic fungi. Biological resource center. National Institute of Technology and Evaluation. Japan.
- Arbefeville, S., Harris A., Ferrieri. P. (2017). Comparison of Sequencing the D2 Region of the Large Subunit Ribosomal RNA Gene (MicroSEQ®) Versus the Internal Transcribed Spacer (ITS) Regions Using Two Public databases for Identification of Common and Uncommon Clinically Relevant Fungal Species. *J. Microbiol. Meth.* S0167-7012 (17) 30165-3, doi: 10.1016/j.mimet.2017.06.015.
- Bacon, W. C., Hinton, M. D., Mitchell, R. T., Snook, E. M., Olubajo, B. (2012). Characterization of endophytic strains of *Bacillus mojavensis* and their production of surfactin isomers. *Biological Control.* Vol 62, 1-9.
- Balouiri, M.; Sadiki, M.; Ibsouda, S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* **2016**, 6, 71-79.
- Berríos, J., Illanes, A., Aroca, G. Spectrophotometric method for determining gibberellic acid in fermentation broths. *Biotechnol Lett.* 2004 26: 67-70. doi: 10.1023/b:bile.0000009463.98203.8b. PMID: 15005155.

- Breinholt, J., Ludvigsen, S., Rassing, B. R. and Rosendahl C. N. (1997). Oxysporidinone: A Novel, Antifungal N-Methyl-4-hydroxy-2-pyridone from *Fusarium oxysporum*. 1997. J. Nat. Prod. 1997, 60, 33-35.
- Cui, J-L., Gong, Y., Vijayakumar, V., Zhang, G., Wang, M-L., Wang, J-H and Xue, X-Z. (2019). Correlation in Chemical Metabolome and Endophytic Mycobiome in *Cynomorium songaricum* from Different Desert Locations in China. J. Agric. Food Chem. 2019, 67, 3554–3564.
- Enkh-Amgalan, J. (2013) Isolation and antimicrobial activity of endophytic fungi from medicinal plants in Mongolia. *Proceedings of Institute of Biology, MAS*, **29**: 35-37.
- Hyde, K.D.& Soyong, K. (2008). The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity* **33**: 163-173.
- Ibrahim, D., Lee, C.C., Sheh-Hong, L. Antimicrobial Activity of Endophytic Fungi Isolated from *Swietenia macrophylla* Leaves. *Nat. Prod. Commun.* 2014, 9, 1934578X1400900.
- Li, H., Zhou, C., Pan, Y., Gao, X., Wu, X., Bai, H., Zhou, L., Chen, Z., Zhang, S., Shi, S., Luo, J., Xu, J., Chen, L., Zheng, X. and Zhao, Z. (2005). Evaluation of antiviral activity of compounds isolated from *Ranunculus sieboldii* and *Ranunculus sceleratus*. *Planta Med.* Dec;71(12):1128-33.
- Li, L., Mohamad, O.A. A., Ma, J., Friel, A. D., Su, Y., Wang, Y., Musa, Z., Liu, Y., Brian Hedlund, P., Wenjun, L. (2018). Synergistic plant–microbe interactions between endophytic bacterial communities and the medicinal plant *Glycyrrhiza uralensis* F. *Antonie van Leeuwenhoek* 111:1735-1748. 1
- Manmathan, H., Lapitan, N. L (2013). Measuring germination percentage in wheat. *Bioprotocol.* Vol 3, Iss 16, 866.
- Prosperini A., Berrada H., Ruiz M. J., Caloni F., Coccini T., Spicer L. J., Perego M.C., and Lafranconi A. (2017). A Review of the Mycotoxin enniatin B. 2017. *Frontiers in Public Health.* Vol 5, 304. doi: 10.3389/fpubh.2017.00304
- Rajini, SB, Nandhini, M, Udayashankar, AC, Niranjana, SR, Lund, OS, Prakash, HS. Diversity, plant growth-promoting traits, and biocontrol potential of fungal endophytes of *Sorghum bicolor*. *Plant Pathol.* 2020; 69: 642– 654. <https://doi.org/10.1111/ppa.13151>

- Research fronts 2014: 100 top ranked specialties in the sciences and social sciences (2014) The National Science Library, CAS, Thomson Reuters IP & Science, The Joint Research Center of Emerging Technology Analysis. Page 6.
- Senthil Kumar, C.M., Jacob, T.K., Devasahayam, S., Thomas, S., Geethu, C. (2018). Multifarious plant growth promotion by an entomopathogenic fungus *Lecanicillium psalliotae*. *Microbiol. Res.* 2018, 207, 153–160.
- Sharma, Garima., Pant, K.S., Devi, Meera. (2017). Effect of allelochemicals present in *Populus deltoides* leaf extract on wheat (*Triticum aestivum*) in poplar based agroforestry system. 785-787.
- Strobel, G. & Daisy B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **67**: 491–502. DOI: 10.1128/MMBR.67.4.491–502.2003
- Sy-Cordero, A.A., Pearce, C.J., and Oberlies, N.H. Revisiting the enniatins: A review of their isolation, biosynthesis, structure determination and biological activities. *J. Antibiot. (Tokyo)* 65(11), 541-549 (2012).
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipksi, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution*, 30: 2725-2729.
- Vandana, U.K., Rajkumari, J., Singha, L.P., Satish, L., Alavilli, H., Sudheer, P.D.V.N., Chauhan, S., Ratnala, R., Satturu, V., Mazumder, P.B. (2021). The Endophytic Microbiome as a Hotspot of Synergistic Interactions, with Prospects of Plant Growth Promotion. *Biology*. Vol 10, 101.
- Vyas, P., Rahi, P., Chauhan, A., Gulati, A. (2007). Phosphate solubilization potential and stress tolerance of *Eupenicillium parvum* from tea soil. *Mycol. Res.* 111, 931-938.
- Wayne, PA. (2012). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*; Approved Standwayneard-Ninth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. 41-42pp.
- Wu, L.Q., Lv, Y.L., Meng, Z.X., Chen, J., Guo, S.X. (2010). The promoting role of an isolate of dark-septate fungus on its host plant *Saussurea involucreta* Kar. et Kir. *Mycorrhiza* (2010) 20:127–135. doi: 10.1007/s00572-009-0268-8.

- Zhang, H. and Chen, S. Cyclic peptide drugs approved in the last two decades (2001–2021). RSC Chemical Biology. 2022. 3, 18. DOI: 10.1039/d1cb00154j
- Zhang, M., Otsuki, K. and Li, W. (2023). Molecular networking as a natural products discovery strategy. Acta Materia Medica. 2023. Vol. 2(2):126-141. DOI: 10.15212/AMM-2023-0007
- Адъяадолгор, Т., Энх-Амгалан, Ж. (2014) Шаргалдуу лидэр /*Sophora flavescens* Ait/ - ээс ялгасан эндофит мөөгөнцрийн судалгаа. Хүнс судлал 2014. Эрдэм шинжилгээний бага хурлын эмхэтгэл. ШУТИС Хүнсний инженер биотехнологийн сургууль. Хуудас: 90-93.
- Амарбаясгалан, М., Номин, М., Энх-Амгалан, Ж. (2018) Эндофит мөөгөнцрийн гаралтай алкалоидын микробын эсрэг ба элэгний хавдрын эсийг дарангуйлах идэвх тодорхойлсон дүн. Шинжлэх ухааны академийн мэдээ. Vol 58 No 02 (226) 2018, pp 50-59.
- Лигаа, У., Даваасүрэн, Б., Нинжин, Н. “Монгол орны эмийн ургамлыг өрнө дорнын анагаах ухаанд хэрэглэхүй” УБ. 2006. х. 228-229.
- Энх-Амгалан, Ж., Секимото, С., Ямагүчи, К., Цэцэг, Б., Андо К. (2014) Монгол орны зарим ургамлаас эндофит мөөгөнцөр ялгаж тодорхойлсон дүн ба тэдгээрийн антагонист идэвх. ШУА-ийн Биологийн хүрээлэнгийн эрдэм шинжилгээний бүтээл. 30: 54-60.
- Энх-Амгалан. Ж., Мөнгөншагай. Б., Адъяадолгор. Т., Сарантуяа. Ж., Дэлгэр. Х., Сэлэнгэ. Д. (2016). Шаргалдуу лидэр (*Sophora flavescens* Ait)-ээс ялгасан эндофит мөөгөнцрийн өсгөврүүдийг тодорхойлж, тэдгээрт матрин, оксиматрин илрүүлсэн дүнгээс. Эрдэм шинжилгээний бүтээл. Ерөнхий болон Сорилын Биологийн Хүрээлэн №32, ШУА: 282-2

ХАВСРАЛТ 1.

ТӨСЛИЙН ҮР ДҮНД ХЭВЛЭН НИЙТЛҮҮЛСЭН БҮТЭЭЛИЙН ЖАГСААЛТ

1.1. ЭРДЭМ ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ӨГҮҮЛЭЛ

Гадаадад

1. **Enkh-Amgalan J., Amarbayasgalan M., Bumtsend B. and Daritsogzol N.** 2023. "Identification, antimicrobial and plant growth promoting activities of endophytic fungi associated with traditional medicinal plants in Mongolia". Diversity. IF 3.031 (submitted)

Дотоодод

1. **Marjangul N., Enkhtugs E., Daritsogzol N., Chagsaldulam O., and Enkh-Amgalan J.** 2023. "Isolation, identification and characterization of endophytic bacterial strains of the medicinal plants in Mongolia". Proceedings of Institute of Biology №39. (submitted)

1.2. ЭРДЭМ ШИНЖИЛГЭЭНИЙ ИЛТГЭЛ

Олон улсын хуралд

1. **Bumtsend B., Amarbayasgalan M., Enkh-Amgalan J.** 2022. " Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic yeast strains from medicinal plants". Proceeding of the 1st International conference "Natural and biological resources technologies" олон улсын эрдэм шинжилгээний хурал. Ulaanbaatar, Mongolia. 2022.09.29.
2. **Маржангүл Н., Энхтөгс Э., Энх-Амгалан Ж.** 2023. "Isolation, identification and characterization of endophytic bacterial strains of the medicinal plant *Synotrium songaricum* in Mongolia". Microbiology-2023. Олон улсын эрдэм шинжилгээний хурал. Улаанбаатар. 2023.05.03.

1.3. ПАТЕНТ

1. **Энх-Амгалан Ж., Маржангүл Н.** 2023. "Ургамлын өсөлтийг дэмжигч эндофит бактерийн нутгийн омог *Klebsiella* sp. 21BGP26-H1" сэдэвт шинэ бүтээлийн патент (мэдүүлгийн шатанд)



Submit to Special Issue

Submit Abstract to Special Issue

Review for Diversity

Edit a Special Issue

Journal Menu

- Diversity Home
- Aims & Scope
- Editorial Board
- Reviewer Board

Special Issue "Feature Papers in Microbial Diversity and Culture Collections"

- Print Special Issue Flyer
- Special Issue Editors
- Special Issue Information
- Keywords
- Published Papers
- Planned Papers

A special issue of *Diversity* (ISSN 1424-2818). This special issue belongs to the section "Microbial Diversity and Culture Collections".

al_issues/MicrobialDiversity_Collections

Planned Papers

The below list represents only planned manuscripts. Some of these manuscripts have not been received by the Editorial Office yet. Papers submitted to MDPI journals are subject to peer-review.

Title: Microbiological Collections in Brazil: current status and perspectives

Authors: Aline Souto, Chirlei Glienke, Manuela da Silva et al.

Affiliation: /

Abstract: Microbiological collections play a fundamental role in the ex-situ conservation of biodiversity, aiming to support preservation, research, epidemiological studies, and the development of bioproducts. An assessment of Brazilian microbiological collections was conducted to obtain data on the current state of these collections to propose and motivate policies of financial support and prioritization. A questionnaire was developed by researchers from different Brazilian institutions with experience in microbiological culture collections. The tool addressed issues related to identification, characterization, personnel and physical infrastructures, accessibility, digitization, collection quality and management. This questionnaire was sent to public and private institutions in Brazil and was answered by 164 microbiological collections from 78 different institutions. Among these, 73 comprise public research institutions and universities, demonstrating the importance of the State in the preservation and safeguarding of Brazilian microbial diversity. The main taxonomic groups are bacteria (70.7%) and fungi (51.8%) from different Brazilian ecosystems and biomes, including several type strains. Furthermore, the collections preserve microorganisms with biotechnological potential for application in the environmental protection, public health, industry, and agribusiness. However, despite all these economic and biotechnological potentials, the data analysis showed serious limitations and fragilities, especially in terms of physical infrastructure and human resources, and raises alerts about the risk that Brazilian collections are subjected to.

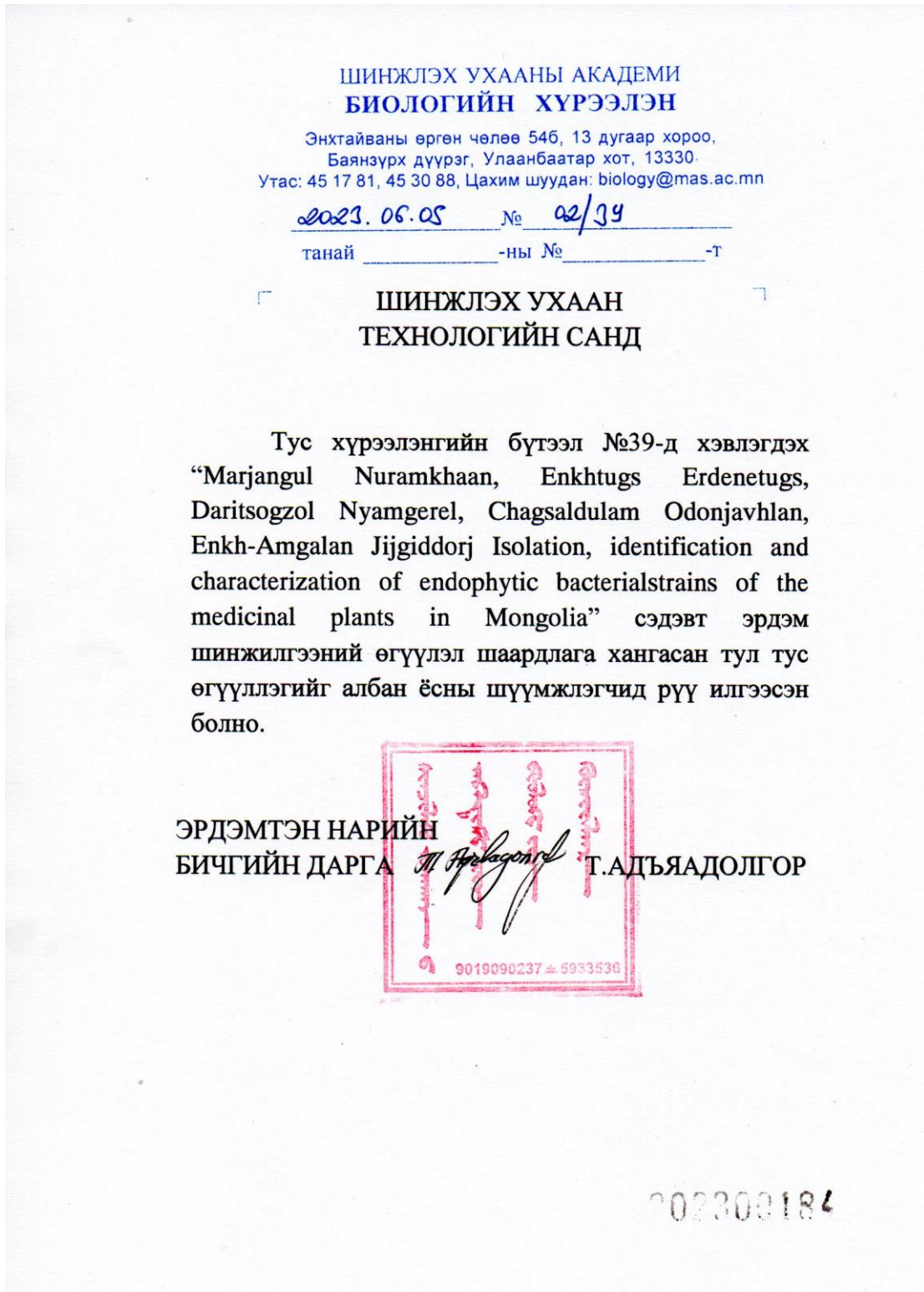
Title: Identification, antimicrobial and plant growth promoting activities of endophytic fungi associated with traditional medicinal plants in Mongolia

Authors: Enkh-Amgalan Jigjiddorj*, Amarbaysgalan Maidarjav and Bumtsend Byambasuren

Affiliation: Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences, Enkhtaivan avenue 54b, Ulaanbaatar 13330, Mongolia

Abstract: Endophytic fungi colonise the inner tissues of plants and provide direct and indirect benefits to the plant. Although Mongolia is rich in medicinal plants, due to climatic and anthropogenic reasons the resources are being depleted and many species are under the threat of gradual extinction, while the endophytic fungi of Mongolian plants are largely unknown. Understanding the diversity and metabolic potential of endophytic fungi is of great significance in terms of the utilization of beneficial fungal strains in plant propagation and the discovery of bioactive compounds. In this study, a total of 36 culturable endophytic fungal strains were isolated from *Saussurea involucreta* (Kar. et Kir.), *Cynomorium songaricum* (Rupr.) and *Glycyrrhiza uralensis* (Fisch. ex DC), medicinal, endangered and vulnerable plant species of Mongolia. Based on the morphological characteristics and the sequences of the rDNA internal transcribed spacer (ITS) region, the isolates were identified to 6 genera: *Clonostachys*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, *Mucor*, *Neocosmospora*, and *Penicillium*. The antimicrobial activity was assessed by agar-diffusion method, revealing that 20 strains were able to inhibit the growth of at least one of the test organisms. Among them, 2 strains showed inhibitory activity against *Escherichia coli*, 19 against *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*, 12 against *Aspergillus niger*, respectively. All fungal strains were screened for their ability to solubilize complex phosphorus and zinc minerals and for their production of indole-3-acetic acid (IAA). The two best zinc solubilizing and IAA producing strains were further processed for quantitative estimation of IAA and gibberellic acid production as well as in vitro seed germination. The culture filtrate of the fungal strains significantly enhanced germination of seeds of *Sophora alopecuroides* L.

Diversity сэтгүүлд хэвлэгдэх өгүүллийн хураангуй вебсайт дээр тавигдсан байдал



ШУА-ийн Биологийн хүрээлэнгийн бүтээлд хэвлүүлэх өгүүлэл хөндлөнгийн хяналтын шатанд байгааг баталгаажуулсан бичиг

Хавсралт А2
[Хувилбар 1107]

Бөглөж өгөх газар:
Инноваци хариуцсан нэгж
301, ШУА
(976) 265001

**Монгол Улсын
Шинжлэх Ухааны Академи
ТЕХНОЛОГИ ЗАДЛАХ МАЯГТ**

Хувийн No. (Зөвхөн ИХН-ийн хэрэглээнд)
410

ШУА-ийн технологи задлах маягтыг өгөхдөө бүтээгчид бүтээрээ гарын үсэг заавал зурсан байх шаардлагатай.

1. ШИНЭ БҮТЭЭЛИЙН НЭР:
Synotrium songaricum эмийн ургамлаас ялгасан эндофит бактерийн нутгийн омог *Klebsiella 21BGP26-N1*

2. ТЕХНОЛОГИЙН ТУХАЙ ТАЙЛБАРЫГ ХАВСАРГАНА УУ

3. БҮТЭЭГЧ(ИД) – Хамгийн гол холбоо барих хүний нэрийн ард од (*) тавина уу (нэмэлт хуудас хавсарч болно)

| ОВОГ, НЭР | АЛБАН ТУШААЛ | НЭГЖ | ӨРӨӨ# | ДУГ. |
|---------------|--------------|---------------------------|-------|------|
| Ж.Энх-Амгалан | ЭШТА | Микробиологийн лаборатори | | |
| Н.Маржангүл | ЭШАА | Микробиологийн лаборатори | 306 | |

4. Шинэ бүтээлийг ямар санхүүжилт ашиглан бүтээсэн бэ? (Төсвийн, төсвийн бус, сан, аж үйлдвэрлэгчийн сан, хандив, гэх мэт тоочно уу) Тийм

| ГРАНТ/ГЭРЭЭ № | З.С.А ТӨСӨЛ № | ЗАХИАЛАГЧ | ЕРӨНХИЙ УДИРДАГЧ Е.У | Е.У. ГАРЫН ҮСЭГ |
|---------------|----------------|-----------|----------------------|-----------------|
| | ШуУз - 2020/01 | БОАЖЯ | Ж.Энх-Амгалан | М. Энх Амгалан |

Грант, гэрээний тухай мэдээллээ үнэн зөв бүрэн оруулахад анхаарна уу. ИХН энэ мэдээллийн дагуу оюуны өмчийн эрхийн тухай ямар заалтууд гэрээнд тусгагдсан талаар тодруулж, журмын дагуу ажиллах үүрэгтэй.

5. Грант, гэрээ байхгүй эсвэл хийгдээгүй бол ШУА-ийн мэдэгдэхүйц өмч хөрөнгө, санхүүжилт ашигласан уу?

6. САНАА ГАРСАН ба НИЙТЛЭСЭН ОГНОО (патентын эрх авахад нөлөөлөх магадлалтай учраас өмнө нь нийтлэсэн бол энэ тухай мэдээллийг зөв өгөх нь чухал)

| | ОГНОО | ИШЛЭЛ/ТАЙЛБАР Сэтгүүлийн нэрийг бичнэ үү. (шаардлагатай бол хуудас нэмж хавсаргаж болно) |
|---|-------|--|
| А. Шинэ бүтээлийн санаа төрсөн огноо. Энэ огноог тэмдэглэж авсан уу? Тийм бол, хаана? | 2019 | “Ургамлаас биологийн идэвхт бодис нийлэгжүүлэгч эндофит бичил биетний өсгөвөр ялгаж өсгөврийн сан бүрдүүлэх, тэдгээрт суурилсан бүтээгдэхүүний туршилт судалгаа” төслийн санал |
| В. Энэ салбарт мэдлэгтэй хүнд цааш нь бие даагаад хийж гүйцэтгэж болохоор ойлгомжтой хэлбэрээр шинэ бүтээлийн талаар хэвлэж нийтлэсэн анхны тохиолдол (шинжлэх ухааны нийтлэл бол хэвлэсэн огноотой хамт) | | Одоогийн байдлаар шинжлэх ухааны өгүүлэл болгож хэвлэн нийтлээгүй |

A2-2

Ургамлын өсөлтийг дэмжих чадвартай бактерийн патент ШУА-ийн Инновацийн газарт мэдүүлсэн баримт

Isolation and characterization of plant growth promoting endophytic yeast strains from medicinal plants

Bun Press Esc to exit full screen J.

Laboratory of Microbiology, Institute of Biology, MAS

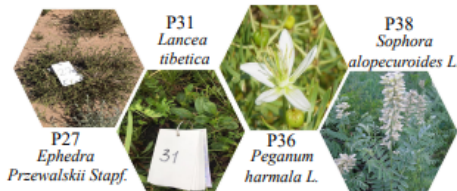
E-mail: Bumtsend@mas.ac.mn

1. Introduction

Endophytes are microorganisms that can be isolated from surface-sterilized plant tissue that does not damage the host plant [1]. Comparatively, studies on the isolation, localization, and diversity of endophytic yeasts are limited [2]. The majority of studies using endophytic yeasts involve trees and plants in the forests. *Cryptococcus sp.*, *Debaryomyces sp.*, *Sporobolomyces sp.*, and *Rhodotorula sp.* are the most commonly isolated endophytic yeast strains [3]. To date, research on endophytic yeasts has focused on ecological studies; however, endophytic yeasts have an array of potential uses in biological control and enhanced plant growth.

2. Materials and Methods

- The medicinal plants are located in Gobi-Altai, Mongolia. We collected samples in August 2021.



- In this study, phosphate and zinc solubilization potentials of the isolated yeast strains were tested by the agar diffusion method [4] [5].

- Indole-3-acetic acid (IAA) production was assessed using the Salkowski reagent, and gibberellic acid was detected by the spectrophotometric method [6].

- The growth-promoting effect was evaluated using the top-of-paper method [7].

- Endophytic yeast strains were identified based on the sequences of the ITS region [8].

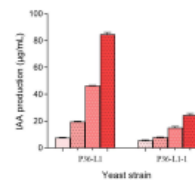
3. Result

- Seven endophytic yeast strains were isolated from medicinal plants of Mongolia.

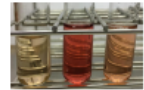


- Four of them showed zinc solubilizing ability, among which strain P38-S2 displayed the highest dissolution with a clear zone of 2.2 cm on solid medium containing zinc sulfate. Only the strain P36-L1 had calcium solubilizing potential.

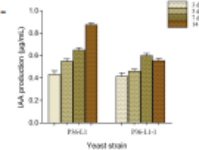
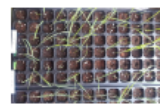
| № | Strain | Zinc and calcium solubilizing ability, mm | | |
|----|----------|---|------------------------------|-----|
| | | Zinc solubilization index | Calcium solubilization index | IAA |
| 1. | P27-L1 | 11 | - | + |
| 2. | P31-R1 | - | - | +++ |
| 3. | P36-L1 | 10 | 10 | +++ |
| 4. | P36-L1-1 | 35 | - | +++ |
| 5. | P36-L1-2 | - | - | +++ |
| 6. | P36-L2 | - | - | ++ |
| 7. | P38-S2 | 22 | - | + |



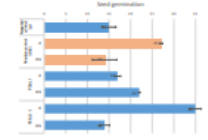
- All yeast strains were able to produce indole-3-acetic acid. Among these strains, P36-L1, P36-L1-1, and P36-L1-2 have shown the highest activity.



- Two strains, P36-L1 and P36-L1-1, produced gibberellic acid.



- Of the yeast strains tested, P36-L1 and P36-L1-1 significantly enhanced both root and shoot length.



- All isolated yeast strains were belonging to four yeast genera, *Eremothecium*, *Naganishia*, *Nakazawaea*, and *Rhodotorula*.

| Strain name | Blast result | Similarity |
|-------------|---------------------------------|------------|
| 1. P27-L1 | <i>Naganishia globosa</i> | 100% |
| 2. P31-R1 | <i>Naganishia albidosimilis</i> | 99.28% |
| 3. P36-L1 | <i>Eremothecium coryli</i> | 99.82% |
| 4. P36-L1-1 | <i>Eremothecium coryli</i> | 100% |
| 5. P36-L1-2 | <i>Nakazawaea holstii</i> | 99.82% |
| 6. P36-L2 | <i>Eremothecium coryli</i> | 100% |
| 7. P38-S2 | <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> | 99.60% |

Reference

- Peterson D (1991) Fungal endophytes of tree leaves. In: Anderson I, Blinn S (eds) Microbial ecology of leaves. Springer, New York, pp 179-197. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3189-5_9
- Peterson DM, Pappas GL, Leckrone DE, Morylo S, Hultine A (2003) Two endophytic fungi in different tissues of stem pine buds (*Pinus sylvatica* L.). *Mycobiol Res* 107(15):141-142. <https://doi.org/10.1007/s00434-002-1818-8>
- Ding W (2013) Endophytic yeasts: Isolation and applications. In: Anon R (ed) Synthetic Endophytes. Springer, Berlin, pp 135-163. https://doi.org/10.1007/978-3-642-31124-1_7
- Rajeev S, B. Sankar, M. Sridharan, A. C. Nirmalan, S. R. Lakshmi, S. Palanisami, H. S. (2020) Diversity of plant growth-promoting traits, and biocontrol potential of fungal endophytes of *Sesbania bicolor*. *Plant Pathology* 69(4), 642-654. DOI: 10.1111/ppa.13151
- Rajeev, A., Angharashah, A., Mujibul, Khairat, K., Pavan, S. (2017) Evaluation of Zinc solubilization potential by different strains of *Pleurostoma*. *Indian J. Microb.* 53(5), 295-298.
- Adzhanova, T., Raik, D., Vignardov, A., Kozubov, S., Tso, H., Serepov, S., Baskary, L., Shiba, B. D., Babkangolov, J., Vignardov, C., and Kozubov, A. (2020) Characterization of the Plant growth-promoting activities of endophytic fungi isolated from *Sophora flavescens*. *Microorganisms* 2020, 8(8), 1-15. doi:10.3390/micro808085063
- Rao, V. K., Hemanth, J., Datta, M. E., Gank, K., Navul, D., and Lavitha, M. (2006). Manual of Seed Banking in Genebanks. *Bioversity International*, 59-63.
- Ardehbeili, S., Hadian, A., Farzani, F. (2017). Comparison of Sequencing the ITS Region of the Large Subunit Ribosomal DNA Gene (rDNA) Versus the Internal Transcribed Spacer (ITS) Region Using the Public Database for Identification of Common and Clinically Relevant Fungal Species. *Journal of Microbiological Methods*, 140:67-76. doi: 10.1016/j.mimet.2017.04.011.

"MICROBIOLOGY-2023" INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONFERENCE


ISOLATION, IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC BACTERIAL STRAINS OF THE MEDICINAL PLANT CYNOMORIUM

N. Madanzhi, E. Enkhbayar, J. Enkh-Amgalan
 Laboratory of Microbiology, Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences,
 Peace avenue-54b, Ulaanbaatar, Mongolia
 E-mail: madanzhi102@ias.ac.cn

INTRODUCTION

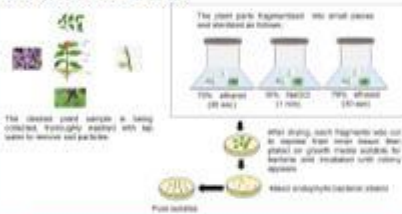
Endophytic bacteria promote the growth of the host plant while inhibiting its intra and intercellular tissue, and enhance plant metabolism, leading to adaptation to harsh environmental conditions.

This work aimed at isolating endophytic bacteria from the rare medicinal plant in Mongolia and screening biological and antimicrobial activity, as well as ex-situ conservation.



For the isolation of endophytic bacteria, the medicinal plant *Cynomorium songaricum* was sampled from Gobi-Altai province of Mongolia (N45°34'43", E98°13'12", h1730m).

MATERIALS AND METHODS:



IAA production was determined visually by color change using a Salkowski's reagent and was quantified spectrophotometrically at 530 nm.

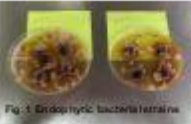
Phosphate solubilization and antimicrobial activity were tested by agar plaque diffusion method.

Bacterial strains were identified by the molecular taxonomic method.

RESULT AND DISCUSSION:

A total of 13 strains of endophytic bacteria were isolated from *Cynomorium songaricum*.

| Fragmented parts of plant | Number of isolates |
|---------------------------|--------------------|
| Head (above ground) | 5 |
| Root (under ground) | 3 |
| New node | 4 |
| Old node | 1 |



Three strains produced IAA, and strain 21BGP26-H1 resulted the highest production (32.56-69.52 µg/mL), after cultivation in a medium supplemented with tryptophan for 4 days. As for the phosphate solubilization 3 strains were positive.






Table 1 Antimicrobial activity of endophytic isolates

| Strain number | Antimicrobial activity | | | | |
|---------------|------------------------|------------------|--------------------|--------------------|-----------------|
| | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>C. albicans</i> | <i>A. niger</i> |
| 21BGP26-H5 | 18.0±0.7 | - | - | 10.51.4 | 20.2±0.7 |
| 21BGP26-ZN4 | - | 9.0±0.7 | - | - | - |

The antimicrobial activity test, strain 21BGP26B-H5 exhibited antagonist activity against *E. coli*, *C. albicans* and *A. niger*, and strain 21BGP26B-ZN4 showed activity against *S. aureus* and *C.*

Table 2 Diversity of endophytic bacteria

| Strain number | Genera | Similarity (%) |
|---------------|-----------------------|----------------|
| 21BGP26-H1 | <i>Klebsiella</i> | 99.9 |
| 21BGP26-H5 | <i>Alcaligenes</i> | 100 |
| 21BGP26-R1 | <i>Serratia</i> | 99.9 |
| 21BGP26-ZN4 | <i>Brevibacterium</i> | 99.9 |
| 21BGP26-ZD1 | <i>Pseudomonas</i> | 99.9 |

Based on production of IAA, P solubilization and antimicrobial activity, 5 strains were selected for molecular identification.

CONCLUSION:

The result of molecular identification exhibited that 5 bacterial strains belong to 5 different genera: *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Alcaligenes*, *Serratia* and *Brevibacterium*, which demonstrated that endophytic bacteria of *Cynomorium songaricum* are diverse.

It should be noted that the genera of *Klebsiella* and *Alcaligenes* are recorded in Mongolia for the first time.

All of the above results suggest that *Cynomorium songaricum* in Mongolia is a promising source of endophytic bacteria with beneficial characteristics such as plant growth promoting and antagonistic activity against pathogens.

REFERENCE:

AlKahtani, D. F. M., Fouda, A., Attia, A. K., Al-Obaidi, F., Eid, M. A., Ewalis, E. E., Hji, M., St Amaud, M., Hassan, E. S., Khan, Hafez, M. Y., Abdalaziz, A. Kh., (2020). Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria from Desert Plants and Their Application as Bioinoculants for Sustainable Agriculture. *Agronomy*, Vol. 10, 1325.

Cui J-L, Gong Y., Vijayakumar V., Zhang G., Wang M-L, Wang J-H, Xue H-Z., (2019). Correlation in Chemical Metabolome and endophytic mycobiome in *Cynomorium songaricum* from different desert locations in China. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 67(13)

Mowafy, M. A., Fawzy, M. M., Gebreil, A., and Elsayed, A. (2021). Endophytic *Bacillus*, *Enterobacter*, and *Klebsiella* enhance the growth and yield of maize. *Soil and plant science*, Vol 71, 237-246.

Osama, L. L., Mohamed, A. A., Ma, J., Friel, D. A., Su, Y., Wang, Y., Musa, Z., Liu, Y., Hedlund, P. B., Li, W., (2018). Synergistic plant-microbe interactions between endophytic bacterial communities and the medicinal plant *Glycyrrhiza uralensis*.

"Microbiology-2023" Олон улсын эрдэм шинжилгээний хуралд хэлэлцүүлсэн ханын илтгэл