

## ЭРКИН АЗОТ ФИКСАЦИЯЛОВЧИ БАКТЕРИЯЛАР АССОЦИАЦИЯСИ ЁРДАМИДА МИКРОСУВЎТЛАРНИ ЎСТИРИШ ВА УЛАРНИНГ РИВОЖЛАНИШИГА ТЕМПЕРАТУРАНИНГ ТАЪСИРИНИ ЎРГАНИШ.

**Алишер Нишон ўғли Насуллоев**

Тошкент вилояти Чирчик давлат педагогика институти  
[alishernasulloyev19@gmail.com](mailto:alishernasulloyev19@gmail.com)

**Феруза Элбековна Чориева**

Тошкент вилояти Чирчик давлат педагогика институти  
[feruzachoriyeva8@gmail.com](mailto:feruzachoriyeva8@gmail.com)

**Бехруз Иброхим ўғли Валиев**

Тошкент давлат юридик университети маҳсус филиали  
[valiyevbehruz884@gmail.com](mailto:valiyevbehruz884@gmail.com)

### АННОТАЦИЯ

Ушбу мақолада минерал озуқа мухитида ўсадиган сув ўтларининг ривожланиши билан еркин азот фиксаторли бактерияларнинг алоқаси ва уларнинг липид ҳосил бўлишига ҳар хил ҳароратнинг таъсири мухокама қилинади. Натижада, оптимал ҳарорат ҳар хил бўлишига қарамай, улар мезофил микрофлора еканлиги аниқланди, яъни улар учун қуидаги ҳароратлар оптимал ҳисобланади: хлорококклар учун - 28 ° С; Ссенедесмус - 26 ° С; Анкистродесмус - 24 ° С; чламидомонас - 28 ° С; Селаструм - 28 ° С; Члорелла - 28 ° С; ботруококк - 24 ° С; Педиаструм - 24 ° С; Стічососкус - 22 ° С; Астерококклар - 28 ° С да ўрганилган.

**Калит сўзлар:** сув ўтлари, қуруқ биомасса, автоспоралар, озуқа мухити, штамм, бактериялар, хлоропласт, переноид.

### STUDYING THE EFFECT OF TEMPERATURE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF MICROALGAE USING THE ASSOCIATION OF FREE NITROGEN-FIXING BACTERIA

### ABSTRACT

This article discusses the association of free nitrogen-fixing bacteria with the development of algae grown on mineral nutrient

media, and the effect of different temperatures on their lipid formation. As a result, despite the fact that the optimal temperature is different, it was found that they are mesophilic microflora, that is, the following temperatures are considered optimal for them: for chlorococci - 28 ° C; Scenedesmus - 26 °C; Ankistrodesmus - 24 °C; chlamydomonas - 28 °C; Celastrum - 28 °C; Chlorella - 28 °C; botruococcus - 24 °C; Pediastrum - 24 °C; Stylococcus - 22 °C; Asterococci - studied at 28 °C.

**Keywords:** algae, dry biomass, autospores, nutrient medium, strain, bacteria, chloroplast, perenoid.

## КИРИШ

Маълумки, табиатнинг турли стресс шароитлари таъсирида Хлорофита синфига мансуб сувўтлар триацелглесерин (ТАГ) ва мембрана липидлари синтезида миқдорий ўзгаришларга учрайди, яъни ТАГ нокулай шароитларда фотосинтез учун заҳира сифатида тўпланади. Азот танқислигида сувўтлари юксак ўсимликлар сингари стрессга учрайди, бу ҳолатда ҳимоя қилиш учун ТАГ тўпланиши кучаяди ва озуқа таркибидаги азотнинг етишмаслиги уларнинг ҳаётийлигини пасайтиради [1]. Шунингдек сувўтларининг ўсиши ва органик моддалар синтезига абиотик омиллар хусусан ҳароратнинг тасири ҳам қузатилади. Популяцияда яшовчи сувўтлари стресс шароитида кўп миқдорда еркин ёғ кислоталарини тўплаши аниқланган, шунинг учун сувўтларининг абиотик омиллар тасирига муносабатини ўрганиш муҳимдир [2]. Саноатда сувўтларидан тўйинган ва тўйинмаган ёғ кислоталарини олиш учун культураларни интенсив етиштириш муҳим аҳамиятга ега [3].

Ушбу тадқиқотимизни амалга оширишдан мақсади ҳароратнинг маҳаллий сувўтлари штаммларининг липидлар биосинтези жараёнларига таъсирини ўрганишдир.

## АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ ВА МЕТОДОЛОГИЯ

Маҳаллий бир ҳужайрали яшил сув ўтларини (микросувўтлар) ажратиб олиш ва уларни ўстиришда қўйдаги озуқа мухитларидан фойдаланилди:

1. «Чу - 13» озуқа мухити (г/л):  $\text{KNO}_3$  – 0,2,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,04,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,1,  $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  – 0,08, темир цитрат – 0,01, лимон кислотаси – 0,1, бор – 0,5 ppm,  $\text{MnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,5 ppm,  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  – 0,02 ppm,  $\text{CoCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,02 ppm,  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  – 0,02 ppm, pH 7,5 [4].

2. Добаръайнер ва Эшби озуқа мухитларида ўстирилган Эркин азот фиксацияловчи бактериялар

азоссперилюм ҳамда азотабактер штаммлари ассоциацияси ёрдамида озуқа мухити тайёрланган озуқада сувўтлари маҳаллий штаммалири 14 кун давомида ўстирилди ва уларнинг ўсиши-ривожланишига ҳароратнинг таъсири ўрганилди [4.,9].

Биомасса таркибидаги ёғ микдорини аниқлаш учун А.Бен-Амотз ва Т.Г.Торнабенеларнинг модификацияланган липидларни экстракциялаш усулидан фойдаланилди [5].

Ҳарорат – атроф мухитнинг организмлар ҳаёт фаолиятидан ажратиш мумкин бўлмаган, мухим экологик омил хисобланади. Маълумки, биологик тизимлар физик-кимёвий жараёнлари температура даражасига боғлиқ. Ҳар бир тур, штаммнинг ўсиши-ривожланишида температура минимуми, максимуми ва оптимуми мавжуддир. Шу сабабли, ҳароратнинг кичик ўзгариши хам метаболитик реакциялар тезлигини ўзгаришига ва умумий моддалар алмашинуви интенсивлигига таъсир этади. Экстремал шароитларда сувўтларининг ўсиши-ривожланиши тўхтайди, тиним даврига ўтади, ҳатто нобуд бўлиши мумкин [6]. Микросувўтларнинг ўртача температурада ўсуви формалари ( $15-30^{\circ}\text{C}$ ) мезофил сувўтлари деб юритилади. Бошқа микросувўтлари стенотермик бўлиб температуранинг  $1^{\circ}\text{C}+11^{\circ}\text{C}$  тор диапазонида ривожланади. Бунга мисол бўлиб қўнғир сувўтлари *Phaeocystis pouchetii* олиш мумкин. Бироқ, асосий микросувўтларининг ўсиши ва қўпайиши, кенг температура оралиғига мослашган [7]. Температура фотосинтез жараёнида мухим роль ўйнаб, микросувўтларнинг ўсиш тезлигига таъсир қиласи [8]. Температуранинг ўзгариши билан микросувўтлар ҳужайралари мембраналаридалиги липидлар таркибидаги ва эркин холдаги ёғлар таркибидаги ёғ кислоталарининг сифатида ўзгариш кузатилган. Температуранинг  $30^{\circ}\text{C}$  дан  $12^{\circ}\text{C}$  гача пасайиши натижасида, липидлар таркибида тўйинмаган ёғ кислоталарининг микдори сезиларли даражада ортади. Паст температурада тўйинмаган ёғ кислоталарининг ортиши ҳужайра мембраналарининг барқарорлигини ва уларнинг оқувчанлигини оширади. Бундай жараён *Nannochloropsis oculata* ва *Chlorella vulgaris* культураларида кузатилади, чунки бу культуралар учун оптимал температура  $25^{\circ}\text{C}$  даражани ташкил қиласи [9].

## МУХОКАМА ВА НАТИЖАЛАР

Юқорида қайт этилганларга кўра, микросувўтларнинг биомасса ва липид ҳосил қилиш самарадорлигини ошишини

температурага боғлиқлигини ўрганиш мақсадида микросувўтларни “Чу-13” суюқ озуқа мухитида қуйидаги стандарт шароитларда амалга оширилди; 4500 ЛК ёруғликда ҳаво ҳарорати 22°C, 24°C, 26°C, 28°C, 2% ли CO<sub>2</sub> ҳаво ёрдамида аралаштирилган ҳолатда күннан күннана 14 кун давомида стерил шароитда ўстирилди. Тадқиқот обьекти сифатида *Chlorococcum*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlamydomonas*, *Coelastrum*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Asterococcus*, *Pediastrum*, *Stichococcus* маҳаллий сувўтлари штаммлари танлаб олинди.

Маҳаллий микросувўтларнинг юқори маҳсулдор штаммларнинг ўсиши ва ривожланишига температуранинг таъсири кузатилганда, *Chlorococcum* штаммлари 22°C температурада 0,129-0,245 г/л қуруқ биомасса, 28°C температурада эса 2,37-2,860 г/л биомассани ҳосил қилди, липид миқдори эса қуруқ биомассага нисбатан 46,8-55,5 % ни ташкил этди. Кирролиянинг тадқиқотларида таъкидланишича температура 20°C дан 30°C га кўтарилилганда икки марта кўпроқ биомасса ҳосил бўлиши кўрсатилган [10.,11].

*Scenedesmus* авлоди микросувўтлари 22°C, 24°C, 26°C 28°C ларда ўстирилганда улар учун 26°C оптимал температура эканлиги кузатилди. Ушбу температурада, *Scenedesmus quadricauda* UT4 2,456 г/л ва *Scenedesmus armatus* UT39 2,964 г/л қуруқ биомасса (1- жадвал )ва биомассанинг 31,8%-33,7% ни липид ташкил қилиши аниқланди (2- жадвал ).

*Coelastrum microporum* UT1, *Chlamydomona reinhardtii* UT11, *Chlorella* sp.2, *Chlorella* sp.4, *Botryococcus* sp.14 ва *Pediastrum tetras* UT2 штаммлари учун 28°C оптимал температура, *Ank. angustus* UT15 ва *Ank. falcatus* UT20 - 24°C, *Stichococcus bacillaris* UT1 - 22°C оптимал температура эканлиги кузатилди.

#### 1 - жадвал

Турли температуralарда 14 кун давомида ўстирилган сувўтларнинг биомасса ҳосил қилиши

№	Микросувўтлари	Қуруқ биомасса г/л			
		22 °C	24 °C	26 °C	28 °C
1	<i>S.quadricauda</i> UT4	0,810±0,2	0,928±0,2	2,456±0,5	1,328±0,6
2	<i>Scenedesmus armatus</i> UT39	0,758±0,5	0,936±0,5	2,964±0,4	1,174±0,3
3	<i>Ch.macrostigmatum</i> UT4	0,129±0,7	1,42±0,7	1,78±0,7	2,860±0,4

4	<i>Ch.macrostigmatum</i> UT8	0,145±0,5	1,79±0,6	1,59±0,6	2,37±0,4
5	<i>C.microporum</i> UT1	0,245±0,3	0,266±0,6	0,266±0,6	0,378±0,8
6	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> UT11	0,934±0,5	0,945±0,1	0,945±0,1	0,114±0,4
7	<i>Ank. angustus</i> UT15	0,124±0,2	0,348±0,5	0,240±0,5	0,105±0,1
8	<i>Ank.falcatus</i> UT20	0,109±0,1	0,346±0,7	0,248±0,7	0,97±0,2
9	<i>Chlorella</i> sp.2	0,138±0,4	0,146±0,5	0,146±0,5	2,742±0,7
10	<i>Chlorella</i> sp.4	0,163±0,6	0,156±0,8	0,156±0,8	2,836±0,8
11	<i>Stichococcus bacillaris</i> UT1	0,285±0,1	0,158±0,1	0,98±0,1	0,83±0,5
12	<i>Botryococcus</i> sp.14	1,788±0,7	0,214±0,8	0,214±0,8	0,692±0,5
13	<i>Asterococcus</i> sp.1	0,887±0,1	0,755±0,1	0,225±0,1	0,778±0,2
14	<i>Pedi Pediastrum tetras</i> UT2	0,123±0,2	0,125±0,5	0,36±0,1	0,168±0,5

## 2 - жадвал

Турли температураларда 14 кун давомида ўстирилган сувўтларнинг липид ҳосил қилиши

№	Микросувўтлари	Липид, %			
		22 °C	24 °C	26 °C	28 °C
1	<i>S.quadridicorda</i> UT4	20±0,3	31,8±0,5	31,8±0,6	30,2±0,4
2	<i>Scenedesmus armatus</i> UT39	21±0,5	29,5±0,8	33,7±0,3	28,2±0,5
3	<i>Ch.macrostigmatum</i> UT4	47±0,5	43,7±1	51,3±2	55,5±3
4	<i>Ch.macrostigmatum</i> UT8	32,8±0,7	39,6±1,2	42,8±1,7	46,8±1,2
5	<i>C.microporum</i> UT1	24,6±0,3	30,8±0,6	32,8±0,2	35,2±0,5
6	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> UT11	28,9±0,5	26,9±0,2	29,9±0,8	34,5±0,6
7	<i>Ank. angustus</i> UT15	24,6±0,3	27,1±0,3	19,7±0,2	16,7±0,2
8	<i>Ank.falcatus</i> UT20	24,3±0,2	26,8±0,5	20,6±0,6	18,6±0,6
9	<i>Chlorella</i> sp.2	18,7±0,4	27,6±0,2	29,2±0,5	30,4±0,3
10	<i>Chlorella</i> sp.4	21,4±0,3	28,2±0,3	30,5±0,6	34,2±0,2
11	<i>Stichococcus bacillaris</i> UT1	47,5±0,7	28,8±0,5	28,8±0,7	24,6±0,5
12	<i>Botryococcus</i> sp.14	28±0,5	29,0±0,8	30,0±0,8	33,8±0,3
13	<i>Asterococcus</i> sp.1	23,8±0,3	24,0±0,3	29,0±0,3	31,0±0,6
14	<i>Pedi Pediastrum tetras</i> UT2	19,4±0,5	20,3±0,6	23,5±0,6	25,2±0,2

## ХУЛОСА

Олинган натижалар асосида хулоса қилиш мумкинки, ўрганилаётган маҳаллий микросувўтларининг оптимум

температураси турлича бўлишига қарамасдан, улар мезофил микросувўтлари эканлиги аниқланди, яъни улар учун қуйидаги температуralар оптимум ҳисобланади: *Chlorococcum* – 28°C; *Scenedesmus* – 26°C; *Ankistrodesmus* – 24°C; *Chlamydomonas* – 28°C; *Coelastrum* – 28°C; *Chlorella* – 28°C; *Botryococcus* – 24°C; *Pediastrum* – 24°C; *Stichococcus* – 22°C; *Asterococcus* – 28°C.

## REFERENCES

1. Ibrokhim Valievich Safarov; Sherzodbek Abdurasulovich Tashbaev Characteristics of the production of biomass and lipids and the identification of microalgae, common in the climatic conditions of Uzbekistan ACADEMICIA: An International Multidisciplinary Research Journal <https://saarj.com> Vol. 10, Issue 12, December 2020 pp 626-633.
2. Иброхим Валиевич Сафаров., Воҳид Бахрамович Файзиев Ўзбекистон сув ҳавзаларида учрайдиган *scenedesmus* авлодига мансуб микросувўтлари штаммларининг турли озука мухитларида биомасса ҳосил қилиш имкониятлари "Science and Education" Scientific Journal October 2020 / Volume 1 Issue 7 pp 38-47. "Science and Education" Scientific Journal October 2020 / Volume 1 Issue 7 pp 38-47.
3. Бозорова Дильбар Саттаровна., Сафаров Иброхим Валиев Микроводоросли, встречающиеся в части водораздела амударья, протекающей через термезский регион и некоторые их морфо – культуральные свойства UNIVERSUM химия и биология № 1 (91) январь, 2022 г
4. Y.P.Nagaraja., Chandrashekhar Biradar., K.S.Manasa and H.S.Venkatesh Production of biofuel by using micro algae (*Botryococcus braunii*) Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci (2014) 3(4): 851-860.
5. Ben-Amotz A., Tornabene T.G., Thomas W.H. Chemical profiles of selected species of microalgae with emphasis on lipids // J. Phycol., 1985. –V. 521. –P. 82-84.
6. Courchesne N.M.D., Parisien A., Wang B., Lan C.Q. Enhancement of lipid production using biochemical, genetic and transcription factor engineering approaches // J. Biotechnol. – 2009. – 141. – P. 31–41.
7. Spo loore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial applications of microalgae // J. Biosci. Bioeng. – 2006. – 101. – P. 87–96.
8. Fuentes-Grünwald C, Garcés E, Alacid E, Sampedro N, Rossi S, Camp J. Improvement of lipid production in the marine strains *Alexandrium minutum* and *Heterosigma akashiwo* by

- utilizing abiotic parameters. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2012–P. 6.
9. de-Bashan LE, Bashan Y, Moreno M, Lebsky VK, Bustillos, JJ Increased pigment and lipid content, lipid variety, and cell and population size of the microalgae *Chlorella* spp. When co-immobilized in alginate beads with the microalgae-growth promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Can. J. Microbiol.* 48: 2002–P.514-521.
10. Gensem R.W., Smith R.E.H., Duthie H.C. Comparative effects of pH and aluminum on silica limited growth and nutrient uptake in *Asterionella ralfsii* var. *Americana* (Bacillariophyceae)//*J. Phycol.*,2003.–V.29.–P. 36–44.
11. Tatsuzawa H., Takizawa E., Wada M., Yamamoto Y. Fatty acid and lipid composition of the acidophilic green alga *Chlamydomonas* sp//*J. Phycol.*, 1996. – V.32. –P. 598–601.