

## RIZOBAKTERIYALARDAN AJRATIB OLINGAN EKZOPOLISAXARIDLARNING KARTOSHKANI SAQLASH DAVRIGA TA'SIRINI O'RGANISH

<sup>1</sup>Murodova Sayyora Sobirovna, <sup>2</sup>Ibragimova Nasiba Muminovna, <sup>3</sup>Otanazarov Denis  
Xudaynazarovich, <sup>4</sup>Yodgorova Sohiba Baxtiyorovna

<sup>1</sup>O'zbekiston Milliy Universiteti Jizzax filiali

<sup>2,3</sup>Urganch davlat universiteti

<sup>4</sup>6 maktabning 1-toifali biologiya fani o'qituvchisi

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8358215>

**Annotatsiya.** Ushbu maqolada *Bacillus subtilis* CKB 308, *Bacillus megaterium* CKB 310, *Pseudomonas stutzeri* CKB 309 shtamlarning o'sishiga va EPS hosil bo'lishiga o'stirish davomiyligining ta'siri o'rganilgan. EPS namunalarining IQ-spektri olingan. *Bacillus subtilis* CKB 308 va *Bacillus megaterium* CKB 310 EPS namunalarining monosaxarid tarkibi aniqlangan.

**Kalit so'zlar:** Polisaxarid, shtamm, *Bacillus subtilis* CKB 308, *Bacillus megaterium* CKB 310, *Pseudomonas stutzeri* CKB 309, EPS, IQ-spektroskopiya, monosaxarid, statsionar faza, biopolymer.

**Аннотация.** В данной статье изучено влияние продолжительности культивирования на рост и образование ЭПС штаммов *Bacillus subtilis* CKB 308, *Bacillus megaterium* CKB 310, *Pseudomonas stutzeri* CKB 309. Получен ИК-спектр образцов ЭПС. Определен моносахаридный состав образцов *Bacillus subtilis* CKB 308 и *Bacillus megaterium* CKB 310 EPS.

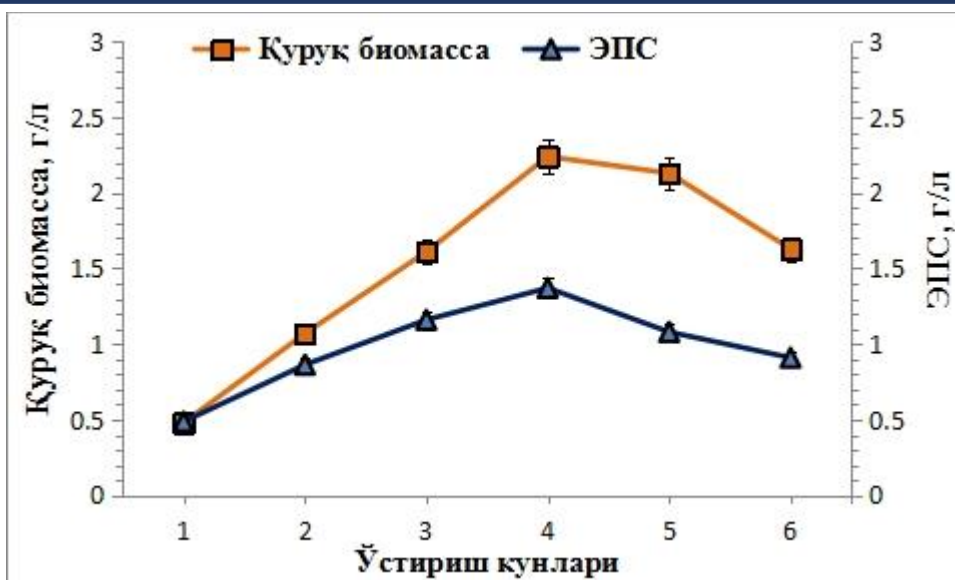
**Ключевые слова:** Polisaxarid, shtamm, *Bacillus subtilis* CKB 308, *Bacillus megaterium* CKB 310, *Pseudomonas stutzeri* CKB 309, EPS, ИК-спектроскопия, моносахарид, неподвижная фаза, биополимер.

Kirish. Ilmiy adabiyotlardan ma'lumki, kultural muhitdagi bakteriyalarning EPS hosil qilishiga o'sish fazalari, muhit tarkibi va sharoitlari kabi bir qator omillar muhim rol o'ynaydi. Oziq moddalarning tabiati va muhitdagi miqdori polisaxaridlarning sintezini va produtsent o'sishini rag'batlantiruvchi zaruriy omillardan hisoblanadi [1.2]. Shuningdek, mikroorganizmlardan polisaxaridlar olishda produtsentni o'stirish sharoitlari polisaxaridlarning shakllanishida, molekulyar massasi, monosaxarid nisbatlari va funksional xususiyatlarini belgilashda muhim rol o'ynaydi [3.15].

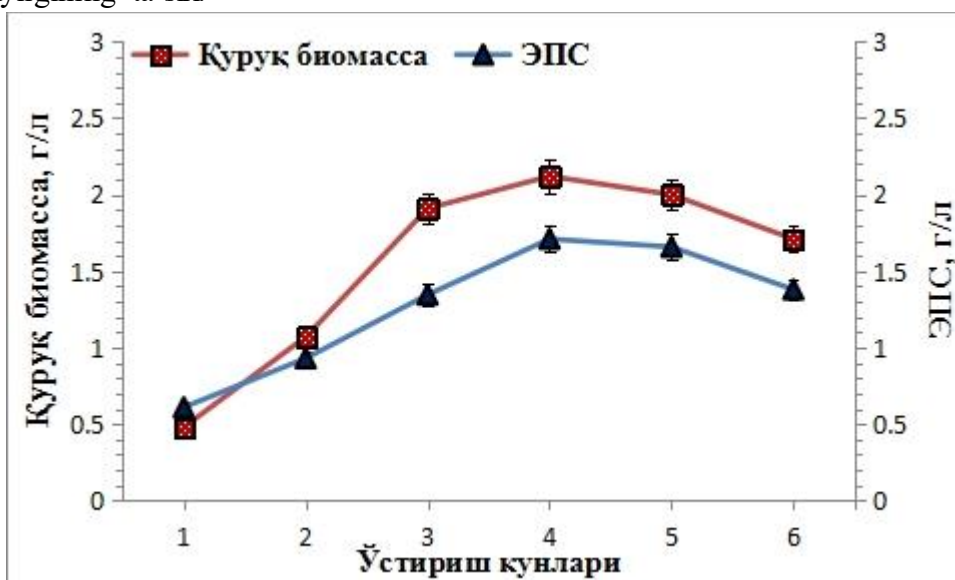
Tadqiqot metodlari va uslublari. Faol EPS hosil qiluvchi *Bacillus* va *Pseudomonas* avlodi vakillarining o'stirish davomiyligi EPS hosil bo'lishi va o'sishiga ta'sirini o'rganish tajribalari 35 °C haroratda va boshlang'ich pH ko'rsatkichi 6,8-7,0 bo'lgan Nutrient Broth suyuq ozuqa muhitida 6 kun davomida olib borildi.

*Bacillus subtilis* CKB 308 va *Bacillus megaterium* CKB 310 kulturalarining statsionar o'sish fazasiga chiqishi 3-4 o'stirish kunlarida kuzatildi va muhitda EPS hosil bo'lishi 5 kungacha ko'tarilib, maksimal 1,37-1,71 g/l ga yetdi. Eng yuqori biomassa miqdori o'stirishning 4-kunida *Bacillus subtilis* CKB 308 shtammida kuzatilib, 2,24 g/l ni tashkil qilgan (1.-rasmlar).

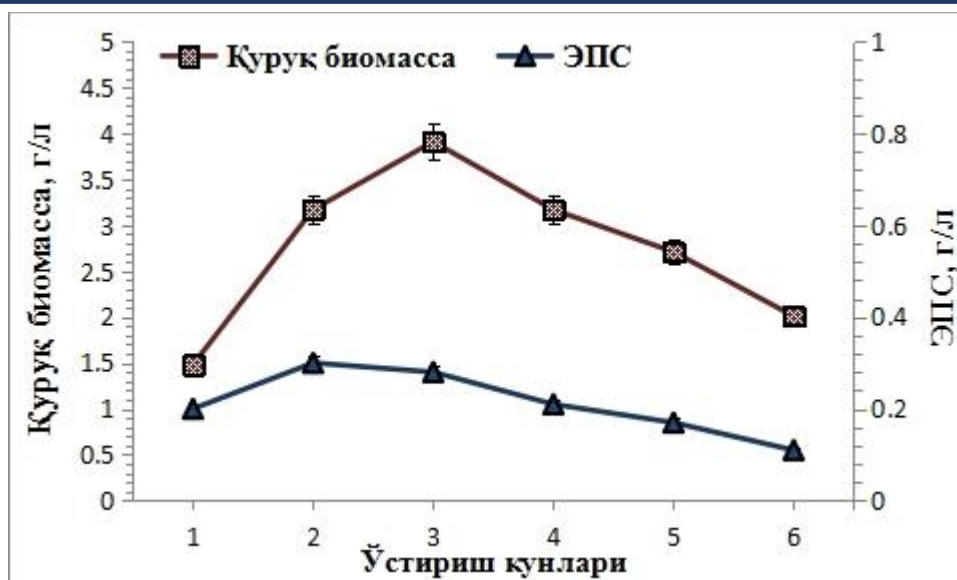
Shuningdek, *Bacillus subtilis* CKB 308 shtammida esa o'sishning statsionar fazasiga chiqishi va eng yuqori EPS hosil bo'lishi 2-3 o'stirish kunlarida kuzatildi (1.-rasm).



1-rasm. *Bacillus subtilis* CKB 308 ning o'sishiga va EPS hosil bo'lishiga o'stirish davomiyligining ta'siri.



2-rasm. *Bacillus megaterium* CKB 310 ning o'sishiga va EPS hosil bo'lishiga o'stirish davomiyligining ta'siri.



3-rasm. *Pseudomonas stutzeri* CKB 309 ning o'sishiga va EPS hosil bo'lishiga o'stirish davomiyligining ta'siri.

Olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, *Bacillus* va *Pseudomonas* avlodi vakillarining EPS hosil qilishi hujayralarni o'sishi bilan bog'liq bo'lib, EPS asosan eksponensial o'sish bosqichida hosil bo'ldi va statsionar fazada biroz davom etdi. Eksponensial o'sish bosqichida hosil bo'lgan EPS statsionar fazada muhitga chiqarildi.

1-jadval

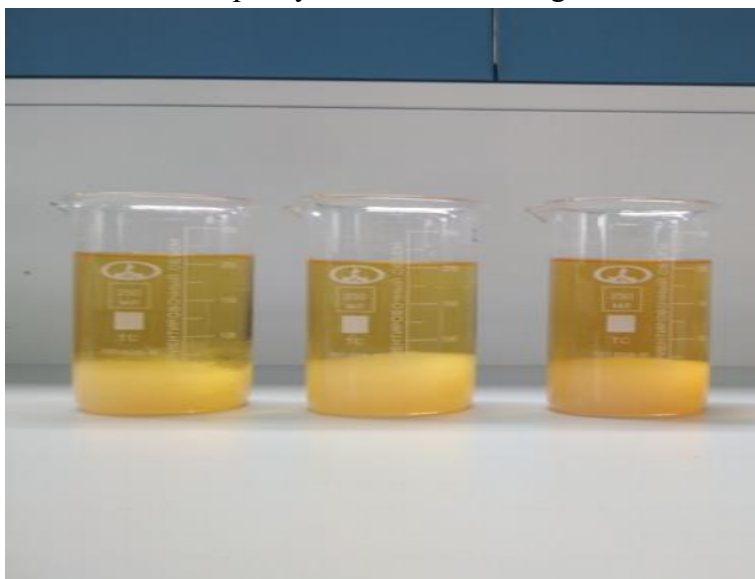
*Bacillus* va *Pseudomonas* avlodi vakillarining muhitda hosil qilgan quruq biomassasi va EPS miqdori

№	Kulturalar	Quruq biomassa, g/l	EPS miqdori	
			EPS miqdori, mg/100 ml	Umumiy EPS miqdori, g/l
1.	<i>Bacillus subtilis</i> CKB 308	2,24±0,13	12,11±0,10	1,371±0,06
2.	<i>Bacillus megaterium</i> CKB 310	2,12±0,29	16,03±0,09	1,71±0,11
3.	<i>Pseudomonas stutzeri</i> CKB 309	3,91±0,17	4,07±0,14	0,31±0,02

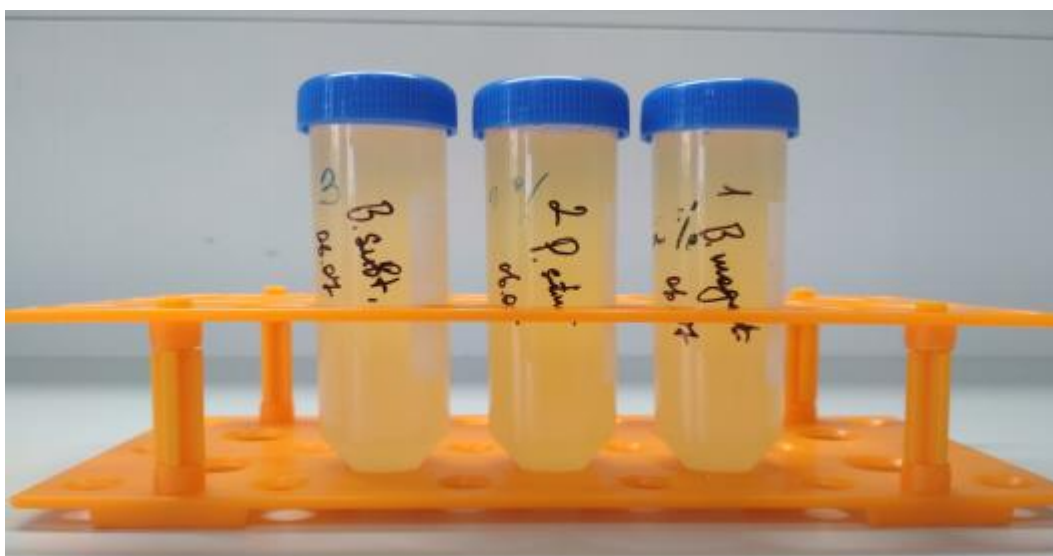
*Bacillus* va *Pseudomonas* avlodi vakillarining EPS hosil qilish unumdorligini o'rganish natijalari ayrim horijiy adabiyot ma'lumotlari bilan mos keladi. Uzoq muddatli o'stirish jarayonida ayrim mikroorganizmlarning muhitda hosil qilgan EPS miqdorining kamayishi EPS larni uglerod manbai sifatida monomerlargacha parchalovchi glikogidrolazalarning mavjudligi bilan bog'liq bo'ladi [4]. Bir qator olimlar ham shunday fikrni yoqlab, muayyan o'stirish vaqtdan keyin EPS hosildorligining pasayishi muhitdagi mikroorganizmlarning glikogidrolazalari faolligi bilan bog'liqligi ta'kidlanadi [5.13.14].



4-rasm. EPS etil spirti yordamida cho'ktilgan



5-rasm. EPS cho'kma eritmasi



6-rasm. EPS eritmasi

Mikroorganizmlar, shu jumladan bakteriyalarning EPS lari bir-biridan tarkibi (biopolimer tarkibidagi kimyoviy bog'lar va funksional guruhlar), fizik-kimyoviy xususiyatlariga ko'ra

farqlanadi. Shuningdek, turli xil galofil bakteriyalar fiziologik guruhlari va avlodlari hosil qilgan EPS lari tarkibi va xususiyatlariga ko'ra bir-biridan farq qiladi.

EPS hosil qilish unumdorligi yuqori bo'lgan *Bacillus subtilis* CKB 308 va *Bacillus megaterium* CKB 310 shtammlarining EPS namunalari fizik-kimyoviy xususiyatlari o'rganildi.

EPS preparati gel filtratsiya qilingandan so'ng to'liq gidroliz qilinib, monosaxaridlarning miqdoriy tarkibi gaz suyuqlik xromatografiyasi (GX) yordamida tahlil qilindi.

Dastlab EPS namunasi (2 mg) 2 ml 1 N sulfat kislota eritmasida (100 °C, 8 soat) gidrolizlangan. Olingan gidrolizat neytrallanib, minimal hajmdagi distillangan suvda (3-5 ml) qayta eritildi. Standart sifatida quyidagi monosaxaridlarning eritmali: glyukoza, mannoza, ksiloza, ramnoza, arabinoza, galaktoza (5 mg/ml) va erituvchi sifatida piridin:etil atsetat:suv:sirka kislota 5:5:3:1 nisbatda ishlatilgan. EPS gidrolizatidagi monosaxaridlarni aniqlash turli standart qandlar uchun hisoblangan Rf qiymatiga muvofiq amalga oshirildi. Olingan natijalar EPS preparati tarkibida turli nisbatdagi monosaxaridlar tutuvchi geteropolisaxarid ekanligini ko'rsatadi.

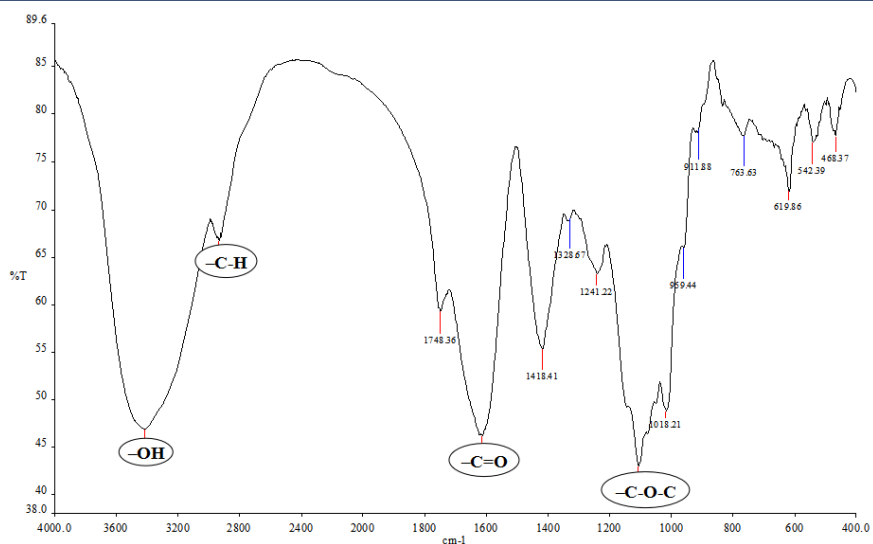
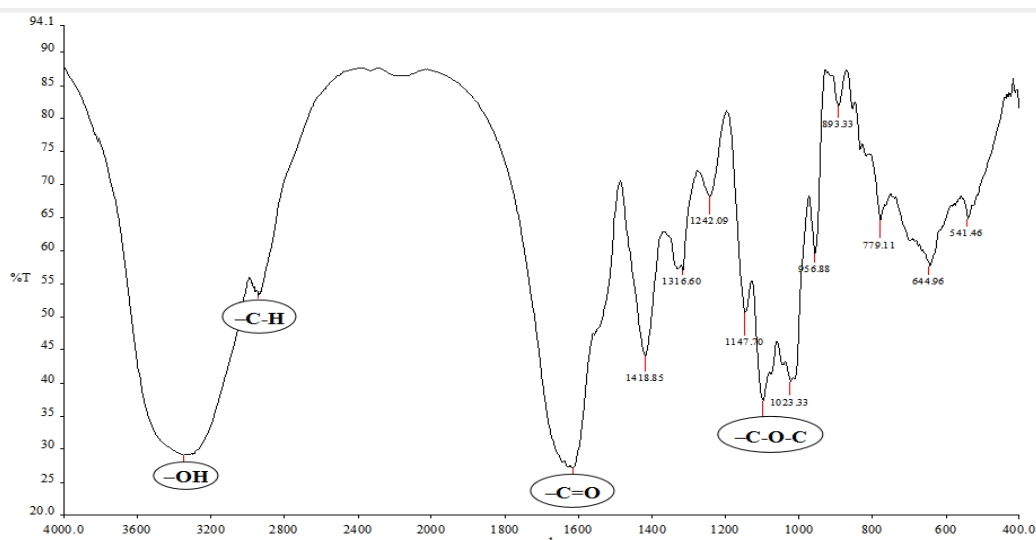
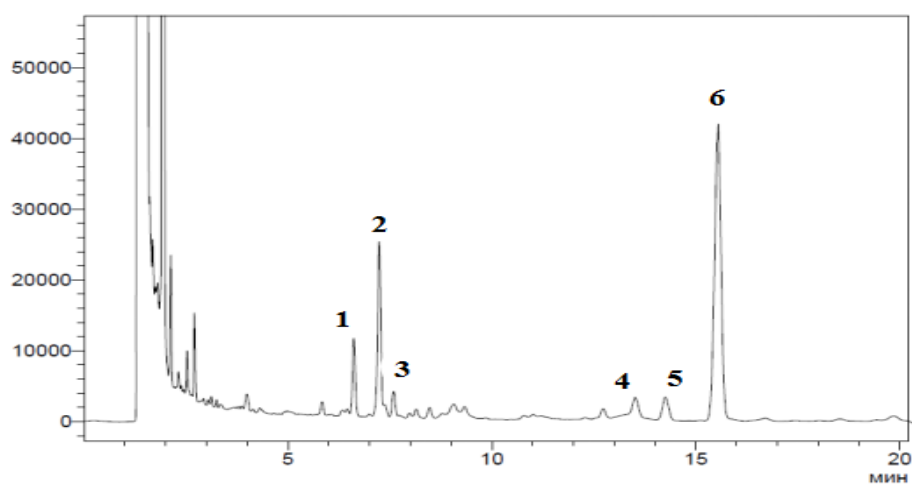
Organik birikmalarni kimyoviy tarkibi o'rganishda IQ-spektroskopiya usuli muhim o'rin egallaydi. Organik birikmalarning IQ-spektrlari asosida kimyoviy bog'larning tabiati va funksional guruhlar haqida xulosa qilish mumkin. Shunga ko'ra, olingan EPS namunalarning IQ-spektri olindi (7 va 8-rasmlar). EPS namunasining IQ-spektri uning tarkibida polisaxaridlarga xos bo'lgan kimyoviy bog'lar va funksional guruhlar mavjud ekanligini ko'rsatadi. Ma'lumotlarni tahlil qilish uchun 400  $\text{cm}^{-1}$  dan 4000  $\text{cm}^{-1}$  gacha bo'lgan to'liq tebranish sohalarida EPS namunasining IQ-spektrlari olindi. 2-jadvalda keltirilgan polisaxaridlarning ayrim asosiy IQ to'liq tebranish nuqtalari tavsifiga ko'ra tahlil qilindi [6].

Shuni ko'rish mumkinki, 3348-3418  $\text{cm}^{-1}$  sohalarida gidroksil guruhi (-OH) tebranishlariga xos bo'lgan keng va kuchli yutilish sohasi kuzatildi. 2935-2945  $\text{cm}^{-1}$  spektr sohalarida tipik uglevodlardagi C-H assimetrik bog'i tebranishga xos yutilish sohasi qayd etildi. 1613-1615  $\text{cm}^{-1}$  spektrlaridagi yutilish sohasi karbonil guruhi (C=O) ga xos. 1098 va 1107  $\text{cm}^{-1}$  dagi keng yutilish sohasi esa polisaxaridlarga xos bo'lgan glikozid bog'lar tebranishlariga muvofiq keladi. Barcha IQ-spektrlari glikozid ko'prigining (C-O-C) tebranishlarini ifodalovchi 1035  $\text{cm}^{-1}$  intensiv cho'qqi (pik) asosiy polisaxarid zanjirini aniqlaydi [7,12]. Bu intensiv pik boshqa piklar bilan bir-biriga yopishganligi sababli spektrlari kengayadi [8].

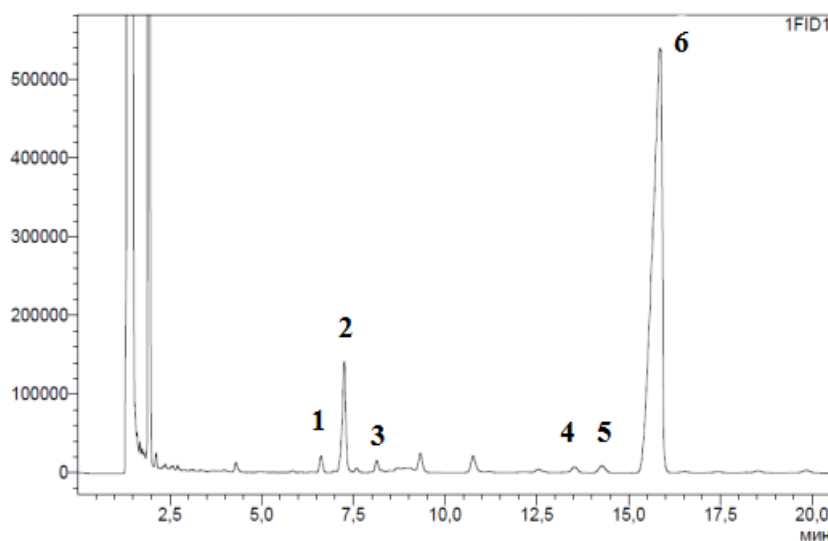
## 2-jadval

Polisaxaridlarga xos infraqizil (IQ) to'liq tebranishlari ro'yxati

IQ yutilish to'liqini ko'rsatkichi ( $\text{cm}^{-1}$ )	Mos keladigan signal xususiyatlari
3500 – 3200	Bu kenglikdagi piklar -OH guruhining valent tebranishlarini bildiradi
3000 – 2840	C-H bog'larini ifodalaydi
1690 – 1630	Karbonil guruhini (C=O) ifodalaydi
1175 – 970	Polisaxaridlar uchun xos bo'lgan 1→4 glikozid bog'larini ko'rsatadi

7-rasm. *Bacillus subtilis* CKB 309 shtamm hosil qilgan EPS namunasining IQ-spektrlari8-rasm. *Bacillus megaterium* CKB 310 shtamm hosil qilgan EPS namunasining IQ-spektrlari9-rasm. *Bacillus subtilis* CKB 308 EPS namunasining monosaxarid tarkibi.

(1) L-ramnoza; (2) L-arabinoza; (3) D-ksiloza; (4) D-mannoza; (5) D-glyukoza; (6) D-galaktoza.



10-rasm. *Bacillus megaterium* CKB 310 EPS namunasining monosaxarid tarkibi.

(1) L-ramnoza; (2) L-arabinoza; (3) D-ksiloza; (4) D-mannoza; (5) D-glyukoza; (6) D-galaktoza.

Olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, *Bacillus subtilis* CKB 308 va *Bacillus megaterium* CKB 310 shtammlari hosil qilgan EPS namunasining monosaxaridlar tarkibi bo'yicha galaktoza ustunlik qilib, 65-70 % ni tashkil etgan. Shuningdek, EPS namunasining monosaxaridlar tarkibiy tahlili asosan Ara:Gal uglevodlardan iborat makromolekula ekanligini ko'rsatdi (10-rasm). Adabiyot ma'lumotlariga ko'ra, *Bacillus amyloliquefaciens* HYD-B17 shtammidan olingan EPS tarkibida 63,7 % glyukoza mavjudligi keltirib o'tilgan [9].

Olingan natijalardan xulosa qilish mumkinki, *Bacillus subtilis* CKB 309 va *Bacillus megaterium* CKB 310 shtammlari o'ziga xos tarkibli EPS hosil qiladi. Ularning kimyoviy tarkibi shtammning o'ziga xos xususiyatiga ozuqa muhit tarkibi va o'stirish sharoitlariga bog'liq bo'ladi. O'stirish sharoitlari va fiziologik omillar EPS ning molekulyar og'irligiga hamda monosaxaridlar tarkibiga ta'sir qilishi mumkinligi haqida adabiyotlarda ta'kidlab o'tilgan [10. 11.14].

#### XULOSA

*Bacillus* va *Pseudomonas* avlodi vakillarining EPS hosil qilishi hujayralarni o'sishi bilan bog'liq bo'lib, EPS asosan eksponensial o'sish bosqichida hosil bo'ldi va statsionar fazada biroz davom etdi. Eksponensial o'sish bosqichida hosil bo'lgan EPS statsionar fazada muhitga chiqarildi.

Organik birikmalarni kimyoviy tarkibi o'rganishda IQ-spektroskopiya usuli muhim o'rin egallaydi. Organik birikmalarning IQ-spektrlari asosida kimyoviy bog'larning tabiati va funksional guruhlari haqida xulosa qilish mumkin. Shunga ko'ra, olingan EPS namunalarning IQ-spektri olindi. EPS namunasining IQ-spektri uning tarkibida polisaxaridlarga xos bo'lgan kimyoviy bog'lar va funksional guruhlarni mavjud ekanligi aniqlandi.

Natijalar shuni ko'rsatdiki, *Bacillus subtilis* CKB 308 va *Bacillus megaterium* CKB 310 shtammlari hosil qilgan EPS namunasining monosaxaridlar tarkibi bo'yicha galaktoza ustunlik qilib, 65-70 % ni tashkil etgan. Shuningdek, EPS namunasining monosaxaridlar tarkibiy tahlili asosan Ara:Gal uglevodlardan iborat makromolekula ekanligini ko'rsatdi.

*Bacillus subtilis* CKB 309 va *Bacillus megaterium* CKB 310 shtammlari o'ziga xos tarkibli EPS hosil qiladi. Ularning kimyoviy tarkibi shtammning o'ziga xos xususiyatiga ozuqa muhit tarkibi va o'stirish sharoitlariga bog'liq bo'ladi. O'stirish sharoitlari va fiziologik omillar EPS ning molekulyar og'irligiga hamda monosaxaridlar tarkibiga ta'sir qilishi mumkin.

## REFERENCES

1. Pal A., Paul A.K. Microbial extracellular polymeric substances: central elements in heavy metal bioremediation // Indian journal of microbiology. – 2008. – V. 48, N 1. – P. 49-64.
2. Pal A., Biswas A., Chatterjee S., Paul A.K. Optimization of cultural conditions for production of exopolysaccharide by *Halomonas marina* HMA 103 under Batch-Culture // American Journal of Microbiology. – 2015. – V. 6, N. 2. – P. 31-39..
3. Finore I., Di Donato P., Mastascusa V., Nicolaus B., Poli A. Fermentation technologies for the optimization of marine microbial exopolysaccharide production // Marine drugs. – 2014. – V. 12, N 5. – P. 3005-3024.].
4. Fukuda K., Shi T., Nagami K., Leo F., Nakamura T., Yasuda K., Senda A., Motoshima H., Urashima T. Effects of carbohydrate source on physicochemical properties of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus fermentum* TDS030603 in a chemically defined medium // Carbohydrate Polymers. – 2010. – V. 79, N 4. – P. 1040-1045.
5. Liu J., Luo J., Ye H., Sun Y., Lu Z., Zeng X. Production, characterization and antioxidant activities in vitro of exopolysaccharides from endophytic bacterium *Paenibacillus polymyxa* EJS-3 // Carbohydrate polymers. – 2009. – V. 78, N 2. – P. 275-281.].
6. Alves A., Caridade S.G., Mano J.F., Sousa R.A., Reis R.L. Extraction and physico-chemical characterization of a versatile biodegradable polysaccharide obtained from green algae // Carbohydr Res. – 2010. – V. 345. – P. 2194-2200..
7. Pereira L., Gheda S.F., Ribeiro-Claro P.J.A. Analysis by vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides with potential use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries // Int. J. Carbohydr. Chem. – 2013. 537202.
8. Pereira L., Sousa A., Coelho H., Amado A.M., Ribeiro-Claro P.J.A. Use of FT-IR, FT-Raman and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids // Biomol Eng. – 2003. – V. 20. – P. 223-228.
9. Vardharajula S., AliSk Z. Exopolysaccharide production by drought tolerant *Bacillus* spp. and effect on soil aggregation under drought stress // The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2014. V. 4. P. 51-57.
10. Finore I., Di Donato P., Mastascusa V., Nicolaus B., Poli A. Fermentation technologies for the optimization of marine microbial exopolysaccharide production // Marine drugs. – 2014. – V. 12, N 5. – P. 3005-3024
11. Sobirova M., Murodova S. Effects of bioparasites on cynara scolymus L., micro and macroelements, and quantity of flavonoids // In E3S Web of Conferences//. 2021. Vol. 258.
12. Sobirova M., Muradova S., Khojanazarova M., Kiryigitov Kh. Extraction of "Elicitor" and determination of volatile organic substances contained in the elicitor// E3S Web of Conferences 389, 01044 (2023) <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202338901044> UESF-2023
13. Sobirova M.M., Murodova S.S. The Influence of Biofertilizers on the Growth and Development of a Medicinal Plant Artichoke (*Cynara scolymus* L.)// International journal for



innovative research in multidisciplinary field issn: 2019. -10, – Impact Factor: 6.497.- pp. 46-49

14. Ibragimova Nasiba Muminovna, Sayyora Murodova, Nodira Ro`zmetova. Kartoshka mahsulolarini saqlanuvchanligini oshirishda biopreparat va ishlov berish. texnologiyasi. O'zbekiston milliy universiteti. xabarlar, 2021. 253-256 bet
15. Ibragimova Nasiba Muminovna, Bazarbayeva Karomat Sultanbayevna, O'rinboyeva Dilnuraxon Davronbek Qizi, Ro'zmetov Timur Ruslan O'g'li. Effects of Zamin-M biopreparate on increasing the storage of potato stores. Electronic journal of actual problems of modern science, education and training. January, 2022-I. ISSN 2181-9750. P.1-8