

10-10-2019

## ECOLOGY OF HALOPHILIC BACTERIA DISTRIBUTED IN THE HYPERHALINE ENVIRONMENTS OF UZBEKISTAN AND THEIR POTENTIAL OF FORMING EXOPOLYSACCHARIDES

Abdulaziz Ibragimovich Kulonov

*Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan PhD student*

Dilbar Tukhtamuratovna Mirzarakhmetova

*Tashkent State Technical University named after Islam Karimov Professor, Doctor of Technical Sciences*

Follow this and additional works at: <https://uzjournals.edu.uz/namdu>



Part of the [Education Commons](#)

---

### Recommended Citation

Kulonov, Abdulaziz Ibragimovich and Mirzarakhmetova, Dilbar Tukhtamuratovna (2019) "ECOLOGY OF HALOPHILIC BACTERIA DISTRIBUTED IN THE HYPERHALINE ENVIRONMENTS OF UZBEKISTAN AND THEIR POTENTIAL OF FORMING EXOPOLYSACCHARIDES," *Scientific Bulletin of Namangan State University*. Vol. 1 : Iss. 10 , Article 25.

Available at: <https://uzjournals.edu.uz/namdu/vol1/iss10/25>

This Article is brought to you for free and open access by 2030 Uzbekistan Research Online. It has been accepted for inclusion in Scientific Bulletin of Namangan State University by an authorized editor of 2030 Uzbekistan Research Online. For more information, please contact [brownman91@mail.ru](mailto:brownman91@mail.ru).

---

# ECOLOGY OF HALOPHILIC BACTERIA DISTRIBUTED IN THE HYPERSALINE ENVIRONMENTS OF UZBEKISTAN AND THEIR POTENTIAL OF FORMING EXOPOLYSACARIDES

Cover Page Footnote

???????

Erratum

???????

**ЎЗБЕКИСТОННИНГ ШЎРЛАНГАН ХУДУДЛАРИДА ТАРҚАЛГАН ГАЛОФИЛ  
БАКТЕРИЯЛАР ЭКОЛОГИЯСИ ВА УЛАРНИНГ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДЛАР  
ҲОСИЛ ҚИЛИШ ПОТЕНЦИАЛИ**

Кулонов Абдулазиз Ибрагимович

Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси Микробиология институти  
таянч докторант

Мирзарахметова Дилбар Тўхтамуратовна

Ислон Каримов номидаги Тошкент давлат техника университети

Профессор, техника фанлари доктори

**Аннотация:** Ўзбекистон республикасининг юқори шўрланган худудлари: Қорақалпоғистон республикаси (Нукус, Кўнғирот), Қашқадарё (Дехқонобод, «Хўжайкон» туз конлари), Фарғона (Ёзёвон), Наманган (Чуст, Мингбулоқ) вилоятлари шўрланган сув хавзалари, тупроқлар ва туз конларидан олинган намуналардан галофил ва галотолерант бактериялар ажратиб олинди. Ажратиб олинган бактериялар 5, 10, 15 ва 20 % тузли суюқ ва агарли муҳитларда ўстирилди, галофил ва галотолерант бактериялар эканлиги аниқланди, уларнинг экзополисахаридлар ҳосил қилиш потенциали ўрганилди.

**Калит сўзлар:** галофил ва галотолерант бактериялар, гипершўрланган сув кўллари, туз кони, сунъий денгиз суви, бактериялар экзополисахаридлари

**ЭКОЛОГИЯ ГАЛОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ РАСПРОСТРАНЕННЫХ В  
ГИПЕРСОЛЕННЫХ РАЙОНАХ УЗБЕКИСТАНА  
И ИХ ПОТЕНЦИАЛ ОБРАЗОВАНИЯ ЭКЗОПОЛИСАКАРИДОВ**

Кулонов Абдулазиз Ибрагимович

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан  
базовый докторант

Мирзарахметова Дилбар Тухтамуратовна

Ташкентский государственный технический университет имени Ислама Каримова

Профессор, доктор технических наук

**Аннотация:** Галофильные и галотолерантные бактерии были выделены из гиперсоленых вод, почв и солевых отложений в Каракалпакстане (Нукус, Кунград), Кашкадаринской (Дехканабад), Ферганской (Язьяван), Наманганской (Чуст, Мингбулак) областях. Выделенные бактерии выращивали в солевом жидкое и агаризованной среде с содержанием 5, 10, 15 и 20% NaCl. Были определены галофильные и галотолерантные бактерии и исследован их потенциал образования экзополисахаридов.

**Ключевые слова:** галофильные и галотолерантные бактерии, гиперсолёные водоемы, соляные месторождения, искусственный морской воды, бактериальные полисахариды

**ECOLOGY OF HALOPHILIC BACTERIA DISTRIBUTED IN THE HYPERSALINE  
ENVIRONMENTS OF UZBEKISTAN  
AND THEIR POTENTIAL OF FORMING EXOPOLYSACARIDES**

Kulonov Abdulaziz Ibragimovich

Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

PhD student

Mirzarakhmetova Dilbar Tukhtamuratovna

Tashkent State Technical University named after Islam Karimov

Professor, Doctor of Technical Sciences

**Abstract:** *Halophilic and halotolerant bacteria were isolated from hypersaline waters, soils and salt deposits in Karakalpakstan (Nukus, Kungrad), Kashkadarya (Dekhkanabad), Fergana (Yazyavan), Namangan (Chust, Mingbulak) regions. The isolated bacteria were grown in liquid and solid saline medium containing 5, 10, 15 and 20% NaCl. It was determined the halophilic and halotolerant bacteria and their potential of forming extracellular polysaccharides was investigated.*

**Key words:** *halophilic and halotolerant, hypersaline lakes, salt deposits, artificial solution of sea water, bacterial polysaccharides*

Галофил микроорганизмлар дунёси жуда хилма хилдир. Табиатда микроорганизмларнинг уч йирик олами: археа, бактерия ва эукариотлар айрим вакиллари эволюцион жараёнда туз концентрацияси юқори бўлган муҳитда яшашга мослашган. Баъзи экотизимлар тузли муҳитларида яхши ривожланадиган микроорганизмлар шунчалик кўплигидан ва ҳосил қилган пигментлар туфайли уларни яққол кўриш мумкин. Ер юзидаги юқори шўрланган сув хавзаларининг тузлари археа (*Haloquadratum* ва *Halobacteriales* бошқа вакиллари), бактерия (*Salinibacter*) ва эукариотлар (*Dunaliella salina*) туфайли пушти-қизил рангга киради. Шўр сув хавзалари ва табиий шўр сув кўлларининг гипершўрланган муҳити тадқиқотчи учун микроорганизмлар хилма хиллиги нисбатан кам ва юқори зичликка эга бўлган экотизимни ўрганиш имконини беради. Бироқ бундай сув хавзаларининг лойқалари ўзига хос биохилма-хилликка эга бўлиб, хозиргача тўлиқ тадқиқ этилмаган [1].

Галофиллар – туз концентрацияси юқори бўлган муҳитларда яшайдиган организмлардир. Галофил микроорганизмларни тузли муҳитда ўсишига кўра гуруҳларга бўлиш мумкин. Кучсиз галофиллар учун NaCl концентрацияси 2-5 %, ўртача галофиллар учун 5-20 %, кучли галофиллар учун эса 20-30 % оптимал хисобланади [2]. Кўпчилик галофиллар гипершўрланган сувлар, тупроқлар, туз ва тузли ер қатламларида учрайди [3, 4]. Йирик шўр сув хавзаларидан то тўйинган галит (туз тоши) тузларигача коррелятив равишда улардаги галофил микроорганизмлар зичлиги ўзгариб боради [5]. Шунингдек, археалар ва бактерияларга мансуб аэробик, анаэробик ва факультатив микроорганизмлар Ўлик денгизи, Буюк Тузли кўл (Юта, АҚШ), Антарктида гипершўрланган кўллари, Магади кўли ва бошқа худуд шўр сувларида ўрганилган [6]. Қорақалпоғистон республикаси ва бошқа вилоятларнинг юқори шўрланган худудларида яшовчи бактериялар тарқалишини ва уларнинг ҳосил қилиш потенциалини ўрганиш ушбу илмий ишнинг мақсади ҳисобланади.

**Материал ва методлар.**

Галофил ва галотолерант бактериялар ажратиб олиш учун шўрланган сув ва тупроқ намуналари олинди. Сув намуналари шўрланган сув ҳавзаларидан 1,0 л хажмли пластик идишларга, сувнинг 10-20 см чуқурликдаги қисмидан олинди (май, 2019). Тупроқ намуналари туз конлари худудидан кристал тузтошлар ва тупроқ холида олинди. Уларнинг шўрланиш даражасини аниқлаш учун 1:10 нисбатда дистилланган сувда эритилиб, филтрланиб фойдаланилди. Олинган намуналарнинг шўрланиш даражаси рефрактометр MASTER-S28a (ATOGO, Япония) ёрдамида аниқланди.

Олинган сув ва тупроқ намуналаридан аэробик галофил ва галотолерант бактериялар ажратиб олиш учун серияли суюлтириш усулида NaCl концентрацияси турли хил бўлган агарли чашкаларга экилди. Озуқа муҳити Субовнинг [7] сунъий денгиз суви эритмасига пропорционал бўлган ноорганик тузлардан таркиб топган. Муҳит таркибидаги тузлар концентрацияси пропорционал равишда ўзгаради ва умумий ноорганик тузларнинг концентрацияси 20 % бўлган озуқа муҳит: (г/л): NaCl – 15,6; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 1,3; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O – 2,0; CaCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O – 0,1; KCl – 0,4; NaHCO<sub>3</sub> – 0,02; NaBr – 0,05 ва KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,5; NH<sub>4</sub>Cl – 1,0; FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O – 0,005; глюкоза – 10,0; ачитқи экстракти – 10,0; агар – 20,0 лардан иборат бўлди (рН 7,2). Экилган намуналар чашкаларда 37°C хароратда термостат (Mettert, Германия) га 7-10 кун давомида ўстирилди. Морфологик аниқ бўлган бактерия колониялари тоза холатда ажратиб олинди ва юқорида келтирилган таркибдаги агарли озуқа муҳитда сақлаш учун экилди.

Намуналардан ажратиб олинган галофил бактерияларни экзополисахарид синтез қилиш потенциалини баҳолаш мақсадида бактериялар 500 мл хажмли Эрленмейер колбаларида (300 мл озуқа муҳит) 20 кун давомида 32-35°C хароратда узлуксиз чайқатиб (120 айл/мин) ўстирилди. Бу суюқ озуқа муҳит умумий ноорганик тузларнинг концентрацияси 20 % бўлган сунъий денгиз суви эритмаси ва KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,05; глюкоза – 5,0; ачитқи экстракти – 5,0 дан иборат (рН 7,2). Барча озуқа муҳитлар рН кўрсаткичи 1 Н ли NaOH эритмаси ёрдамида 7,2 га келтирилди ва 20 минут 110°C хароратда стерилланди.

Галофил бактериялар ўстирилган культурал муҳитда хосил бўлган экзополисахаридларни ажратиб олиш учун этанолдан фойдаланилди. Бунда дастлаб 100 мл олинган культурал суюқлик центрифуга (8000 айл/мин 20 минут давомида) қилинди. Олинган супернатант 4°C хароратда Zellu Trans Dialysis Tube T4 маркали целлюлозали диализ қопчаларда (Scienova GmbH, Германия) 24 соат дистилланган сувга қарши диализга қўйилди. 100 мл культурал суюқлик 2,5 литр дистилланган сувда (сув икки марта алмаштирилди) диализ қилинди. Диализ қилинган супернатант совутилган этанол билан 1:1,5 нисбатда аралаштирилиб чўктиришга қўйилди. Чўктирилган экзополисахаридлар ажратиб олиниб, 2 марта этанол ҳажм бўйича 1:2 нисбатда аралаштирилди ва 30 дақиқадан кейин ажратиб олинди. Олинган полисахаридлар 25 °C 24 соат давомида қуритилди. Сўнг миқдорий ва кимёвий таҳлиллар учун фойдаланилди.

**Натижа ва уларнинг таҳлили.** Полисахаридлар синтезлаш хусусиятига эга галофил ва галотолерант микроорганизмларни топиш ва уларни ажратиб олиш

мақсадида Республиканинг юқори шўрланган хуудлари: Қорақалпоғистон республикаси (Нукус, Қўнғирот), Қашқадарё (Дехқонобод, «Хўжаикон» туз конлари), Фарғона (Ёзёвон), Наманган (Чуст, Мингбулоқ) вилоятлари шўрланган сув хавзалари, тупроқлар ва туз конларидан намуналар олинди (1-2-расмлар).

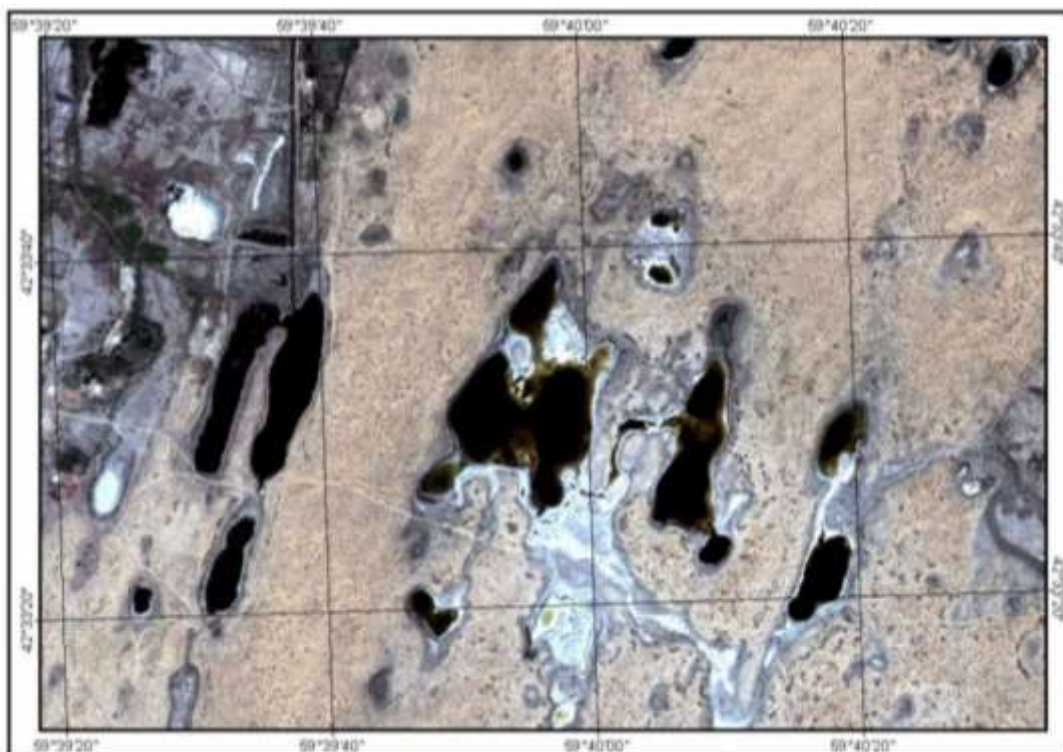


1-расм. Қорақалпоғистон Республикаси, Қўнғирот тумани сув хавзаси



2-расм. Қашқадарё вилояти, Дехқонобод тумани, «Хўжаикон» туз кони.

Айрим намуналар олинган хуудларнинг GIS хариталари қуйида келтирилган (3-4-расмлар).



3-расм. Чимбой худудан намуналар олинган кўлнинг GIS харитаси.



4-расм. Аччиққўл кўлининг GIS харитаси

Гипершўрланган сув ва туз кристаллари намуналари махсус агарли муҳитга экиб ўстирилди (NaCl концентрацияси 5, 10, 15, 20 %). Турли намуналар экилган агарли озуқа муҳитларда алоҳида колония ҳосил қилиб ўсан бактерияларнинг шакли, турғунлиги ва пушти-қизил ранг ҳосил қилиш белгиларига кўра ажратиб,

танлаб олинди. Олинган шўр сув ва тупроқ намуналари экилган озуқа муҳитда NaCl концентрацияси ортиши билан галофил бактерияларнинг колониялар ҳосил қилиши сезиларли фарқ қилди (намуналар олинган жойларга боғлиқ эмас) ва аста-секин камайиб борди (1-жадвал).

1-жадвал

**Олинган сув ва тупроқ намуналарининг тузли муҳитлардаги бактериялар**

Вилоятлар	Намуналар олинган жой номи	Олинган намуналар сони	рН	Намуналарнинг шўрлик даражаси, г/л	Турли концентрациядаги тузли (NaCl) озуқа муҳитда ҳосил бўлган бактериялар сони (КОЕ/мл/г намуна, 10 <sup>2</sup> )			
					5 %	10 %	15 %	20 %
Қорақалпоғистон Республикаси	Аччиққўл	1	8.15	134,1	-	1,86	1,47	0,30
	Қўнғирот	1	7.63	147,6	-	1,08	0,72	0,56
Наманган	Чимбой	1	7.90	117,6	-	2,42	1,18	0,22
	Мингбулоқ	1	6.45	19,8	0,12	-	-	-
Фарғона	Чуст, Резаксой	1	6.90	16,9	0,23	-	-	-
	Ёзёвон	1	7.10	10,6	0,10	-	-	-
Қашқадарё	Дехқонобод (тузкони)	2	7.35	330,0-375,0	0,10	0,10-0,20	0,40-0,45	0,60-0,66

Танлаб олинган галофил бактерияларнинг экзополисахарид синтез қилиш потенциални баҳолаш учун 20 кун давомида 32-35°C хароратда суюқ озуқа муҳитда узлуксиз чайқатиб (120 айл/мин) ўстирилди.

Галофил бактериялар ўстирилган культурал муҳитда ҳосил бўлган экзополисахаридларни ажратиб олиш учун этанол ёрдамида чўктирилди. Бунда дастлаб 100 мл олинган культурал суюқлик центрифуга (8000 айл/мин 20 минут давомида) қилинди. Олинган супернатант 24 соат дистилланган сувга қарши диализга қўйилди. Диализ қилинган супернатант совутилган (4°C) этанол билан 1:1,5 нисбатда аралаштирилиб чўктиришга 6 соат давомида қўйилди.

Турли намуналардан ажратиб олинган галотолерант ва галофил бактерияларнинг экзополисахаридлар ҳосил қилиш потенциали ўрганилди. Олинган натижаларга кўра энг юқори натижа гипершўрланган сув хавзалари (Қўнғирот) намуналаридан ажратиб олинган бактерияларнинг 100 мл культурал суюқлигидан ±0,71 гр (қурук) чўкма олинган бўлса, Қашқадарё вилояти туз конлари намуналаридан ажратиб олинган бактериялар эса 100 мл культурал суюқлигидан ±0,95 гр (қурук) чўкма ажратиб олинди. Чўктирилган экзополисахаридлар қуритилиб, миқдорий ва кимёвий таҳлиллар учун фойдаланилди.



**Хулоса.** Шўр сув хавзалари сувларининг таркиби доимий бўлмай, йил мавсуми ва ёғингарчилик миқдорига боғлиқ равишда ўзгариб туради. Сув таркибидаги тузлар концентрацияси 10 г/л дан тўйинган шўрланишгача ўзгаради. Ажратиб олинган бактерия колонияларининг туз концентрацияси юқори (15-20 %) бўлган муҳитда яхши ўсиши, алоҳида колония ҳосил қилиб ўсган бактерияларнинг шакли, турғунлиги ва пушти-қизил ранг ҳосил қилиш белгилар уларнинг *Halobacteriaceae* оиласига мансуб эканлигидан далолат беради.

#### **References:**

1. Yanhe M., Erwin A. G., William D. G., Aharon O., Antonio V. Halophiles 2010: Life in Saline Environments. Appl. Environ. Microbiol. 2010, 76(21): P. 6971–6981.
2. Das Sarma S., Arora P. Halophiles. In: Encyclopaedia of life science. Nature Publishing Group, London, 2001. P. 1-9.
3. Oren A. Halophilic microorganisms and their environments. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, USA, 2002. P. 1-19.
4. Das Sarma S., Das Sarma P. Halophiles in Encyclopedia of Life Sciences (General and Introductory Life Sciences). Wiley, London, UK. 2012.
5. Oren A. Microscopic examination of microbial communities along a salinity gradient in saltern evaporation ponds: a halophilic safari. In: Gunde-Cimerman N (Ed.), Adaptation to life at high salt concentrations in *archaea*, *bacteria* and *eukarya*. Springer, 2005. P. 41-57.
6. Oren A., Rodriguez-Valera F. The contribution of halophilic bacteria to the red coloration of saltern crystallizer ponds. FEMS Microbiol Ecol, 2001. 36(2-3): P. 123-130.
7. Rathi D.N., Amir H.G., Abed R.M.M., Kosugi A., Arai T., Sulaiman O., Hashim R., Sudesh K. Polyhydroxyalkanoate biosynthesis and simplified polymerrecovery by a novel moderately halophilic bacterium isolated from hypersaline microbial mats. *Journal of Applied Microbiology*, 2012. Vol. 114. P. 384-395.