

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС
ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ
ТОШКЕНТ КИМЁ-ТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ**

Қўлёзма ҳуқуқида
УДК: 632.931.575.23

БОҚИЕВ АҚЛЖОН АХМАДЖОНОВИЧ

**TRICHODERMA ЗАМБУРУҒИ АСОСИДА ОЗУҚА ЕМИ ҚЎШИМЧАСИ
ТАЙЁРЛАШ ЖАРАЁНЛАРИНИ ЎРГАНИШ**

Мутахассислик 5A522907- озиқ-овқат ва озуқа маҳсулотлари
биотехнологияси

магистрлик академик даражасини олиш учун
ДИССЕРТАЦИЯ

Илмий раҳбар,
б.ф.н., доцент

Хўjamшукуров Н.А.

Иш “Биотехнология” кафедрасида кўриб чиқилган
ва расмий ҳимояга рухсат берилган.

“_____” _____ 2011 г.

Кафедра мудири, к.ф.д., проф. Тошмуҳамедов М.С.

Ҳимояга рухсат этилди:

“_____” _____ 2011 г.

“Озиқ-овқат маҳсулотлари технологияси”

факультети декани, доцент Ш.А.Муталов.

Тошкент 2011

МУНДАРИЖА

КИРИШ	
1-боб. Адабиётлар шарҳи	
1.1. Озуқа оксили тайёрлаш бўйича замонавий қарашлар	
1.2. Озуқа ачитқилари	
1.3. Бактериялардан олинадиган оксил концентратлари	
1.4. Микроскопик замбуруғлар оксиллари	
1.5. Ўсимликлардан олинадиган оксил концентратлари	
1.6. Микроорганизмлар биомассасидан озуқа оксили тайёрлаш	
1.7. Махсулдор продуцентларни ҳужайра инженерлиги асосида яратиш усуллари	
1.8. Сув ўтларидан олинадиган озуқа оксиллари	
1.9. Озуқа еми классификацияси, турлари, кимёвий таркиби ва озуқавийлик қийматлари	
2-боб. Тажриба манбалари ва усуллари.....	
2.1. Тажриба манбалари	
2.2. тажриба усуллари.....	
3-боб. Олинган натижалар ва уларнинг муҳокамаси.....	
3.1. Fusarium ва Trichoderma замбуруғларининг оксил ҳосил қилиш хусусиятига углерод ва азот манбаларининг таъсири	
3.2. Fusarium ва Trichoderma замбуруғларидан юқори оксил синтезловчи штаммлар яратиш	
3.3. Мутант штаммларнинг оксил ҳосил қилиш даражасини қиёсий ўрганиш	
3.4. Мутант штаммларнинг қаттиқ озуқа муҳитларида ўстирилганда уларнинг оксил ҳосил қилишига турли хил азот манбаларининг таъсири	
ХОТИМА	
ХУЛОСАЛАР.....	
ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАРИ	

КИРИШ

Мавзунинг долзарблиги. Углерод манбаларининг замбуруғ фаоллигига таъсири. Охирги йилларда целлюлоза махсулотларини аэробли парчалаш йўли билан микроб оксилларини олишга катта эътибор қаратилмоқда. Микромицетлар хужайралари катта миқдорда ферментлар ҳосил қилиш ва натижада турли хил чиқиндиларни парчалаб, оксил моддаларига айлантириш хусусиятига эга. Замбуруғлар биомассаси таркибида 50% гача, протеин, 4.5-5.0% ёғ, “В” гуруҳига мансуб витаминлар ҳамда 0.6-2% гача нуклеин кислоталар мавжуд. Адабий манбаларда, таркиби целлюлозасиз муҳитларда микроорганизмлар ўсиб оксил ҳосил қилиш қобилияти тўғрисида маълумотлар келтирилган [1,2,3,6].

Микроскопик замбуруғларни мицелийлари оксил ва алмашмайдиган аминокислоталарга бой манба ҳисобланадилар. Ўзларини озуқавий хусусиятлари бўйича мицелиал замбуруғлардан олинадиган оксил моддалари соя ва гўшт оксидига яқин туради, шунинг учун ҳам нафақат чорвачиликда, балки инсон таомларига қўшимча хизмат қилаолади. Мицелиал замбуруғларни саноатда ўстириш учун озуқа манбаи сифатида одатда лигнин, гемицеллюлоза, клетчатка сақловчи ўсимликлар чиқиндилри ишлатилади [7-9].

Бунда бир йўла оксил массасини тайёрлаш ҳамда атроф-муҳитни ифлослаштириш манбаи бўлиб, хизмат қилиши мумкин бўлган ўсимликшунослик ҳамда ёғочга ишлов бериш ва целлюлоза - қоғоз саноати чиқиндиларини утилизация қилишдек икки йирик муаммо ўз ечимини топади.

Айниқса, микрофлора таъсирига чидамли бўлган лигнин углеродини утилизация қилиш имкониятига эга бўлган фаол штаммлар яратиш катта аҳамиятга эгадир. Табиатда лигнин фақатгина қўнғир ва оқ рангли чиришни амалга оширувчи *Stropharia*, *Pleurotus*, *Abortiporus*, *Coriolus*, *Sterium* ва бошқа авлодларга мансуб бўлган замбуруғлар иштирокида парчаланadi халос. Ҳозирги вақтда чуқур изланишлар оқибатида токсин сақламайдиган,

захарсиз, тез ўсувчи мезо ва термофил замбуруғларни штаммлари яратилган ва ишлаб-чиқаришга тадбиқ этилган. Бундай штаммлар *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* авлодларига мансуб штаммлардир. Бу замбуруғларни хужайра қобиклари юпка бўлиб, ҳайвонларни ошқозон-ичак йўлида осон ва тез парчаланади. Уларни таркибида ўзига ҳос ҳид ва маза берадиган ароматик моддалар, витаминлар ва ёғлар бор.

Ачитқи замбуруғларига қараганда мицелиал замбуруғлар оксиллари олтингугурт сақловчи аминокислоталарга бой, ва яхши ҳазм бўлади. Уларни таркибидаги нуклеин кислоталар миқдори (1-4%) ўсимликларникига яқин. Шунинг билан бирга мицелиал замбуруғлар хужайраларида оксил камрок синтез бўлади (20-60% қуруқ массадан), улар ачитқи замбуруғларига нисбатан секин ривожланадилар ва биомасса ҳосил қиладилар (биомассани икки маротаба кўпайиш даври 4-16 соат, ачитқи замбуруғларида эса 2-3 соат).

Целлюлоза ва лигноцеллюлоза сақловчи чиқиндиларда ўстирилган тубан мицелиал замбуруғларнинг гидролитик ферментлар синтез қилиш хусусияти туфайли лигнин ва целлюлозани оддий моддаларгача парчалаб ташлайдилар ва улардан аминокислоталар ҳамда оксил моддалари ҳосил бўлади. Мицелиал замбуруғларни ўсишини тезлаштириш учун ўсимлик чиқиндиларига дастлабки ишлов бериш (ювиш, иситиш, майдалаш ва х.к) фойдалидир. Кўпроқ ишқорий кислотали ишлов бериш, юқори босимда пар билан ишлов бериш, аммиак ёки каустик сода билан ишлов бериш усулларида фойдаланилади.

Мана шундай ишлов беришлар оқибатида лигнин ва бошқа қийин гидролизланувчи полисахаридлар қисман парчаланадилар, бу эса замбуруғ массасини тезроқ ўсиб, ривожланишини (5-6 сутка) таъминлайди. Ўсимлик маҳсулотларини тайёрланганлигига қараб, микроскопик замбуруғларни ўстиришни тегишли усуллари танланади. Замбуруғларни қаттиқ озуқа муҳитида ўстириш учун қаттиқ фазада ферментация қилиш усули ишлаб чиқилган. Бу усул ўсимлик маҳсулотларини майдалаш, уларга иссиқ пар ёки

аммиак суви билан ишлов бериш, уларни минерал моддалар билан тўйинтириш, замбуруғларни экиш ва уларни олдиндан аниқланган хусусиятларга йўналтириш озиқ-овқат ва озуқа махсулотлари биотехнологияси йўналишининг энг долзарб муоммаларидан бири ҳисобланади.

Тадқиқот мақсади: илмий ишдан асосий мақсад, табиатда кенг тарқалган микромицетлардан *Fusarium* ва *Trichoderma* замбуруғлари асосида қишлоқ хўжалиги қолдиқ махсулотлари бўлган, қийин парчаланувчи целлюлоза сақловчи материалларни (буғдой сомони, маккажўхори сўтаси, шоличилик саноати чиқиндиси ва х.к.) қайта ишлашда фаол бўлган микробиологик манбаларнинг баъзи бир жиҳатларини ўрганишдан иборат.

Тадқиқот вазифалари: Ишда қуйидаги асосий вазифалар қўйилган:

- *Fusarium* ва *Trichoderma* замбуруғларининг оқсил ҳосил қилиш хусусиятига углерод ва азот манбаларининг таъсирини таҳлил қилиш;
- *Fusarium* ва *Trichoderma* замбуруғларидан юқори оқсил синтезловчи штаммлар яратиш;
- Дурагай штаммнинг баъзи бир хусусиятларини таҳлил қилиш;
- Ўрганилаётган штаммларнинг қаттиқ озуқа муҳитларида, ҳар хил ҳароратда ва рН муҳитида оқсил ҳосил қилиш қобилиятларини таҳлил қилишдан иборат.

Илмий янгилиги: илк бор *Fusarium moniliforme*-112 ҳамда *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғ штаммлари асосида ҳужайра биотехнологияси усули асосида юқори даражада оқсил ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлган FT-2 мутант штамми яратилди. Шунингдек, *Streptomyces afganiensis*-7 култураси асосида тайёрланган целлоафганин ферментининг таъсир доираси FT-2 мутант замбуруғи асосида кўрсатиб берилди.

Ишнинг амалий аҳамияти: Биринчи марта Ўзбекистон шароитида *Trichoderma* ва *Fusarium* замбуруғларнинг биомасса ҳосил қилишига $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи энг муҳим азот манбаи бўлиб хизмат қилиши қайд этилди.

Жумладан, энг кўп миқдордаги биомасса ва протеин ҳосил бўлиши, сут зардобига 12 г/л миқдорида $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи қўшиб, замбуруғлар ўстирилганда *Trichoderma harzianum*-22 ва *Fusarium solani* var.*agrillaceum*-9 замбуруғларида 34.2 ва 31.2 г/л биомасса ҳосил бўлиши, оқсил эса *Trichoderma harzianum*-22 штаммида 45.2%, *Fusarium solani* var.*agrillaceum*-9 штаммида эса 39.0% ни ташкил этиши кўрсатиб берилди. Шунингдек, *Streptomyces afganiensis*-7 култураси асосида тайёрланган целлоафганин ферменти асосида мутант штаммлар олишнинг шарт шароитлари шакллантирилди.

Натижаларнинг эълон қилинганлиги. Диссертация ишининг асосий натижалари 2 та тезис анжуман маърузаларида эълон қилинган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация иши кириш, учта боб, хулоса, ишлаб чиқаришга тавсиялар, қўлланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертация иши 70 бетдан иборат бўлиб, компьютер услубида ёзилган, 6 та расм ва 10 та жадвалларга эга. Қўлланилган адабиётлар рўйхати 102 та.

1-БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРҲИ

1.1. Озуқа оқсили тайёрлаш бўйича замонавий қарашлар

Бирлашган миллатлар ташкилоти (БМТ) қошида ташкил этилган озиқ-овқат ва қишлоқ хўжалиги масалалари бўйича халқаро ташкилот (ФАО) жуда кўплаб оқсилларни аминокислота таркибини ўрганиб чиқиш орқали бир қатор йўлланмалар ишлаб чиққан [3]. Бу йўлланмаларда озиқ-овқат ва озуқа оқсили таркибидаги оқсилларда алмашмайдиган аминокислоталарни меъёрий (оптимал) миқдори кўрсатилган. Масалан, агар ФАО йўлланмаси асосидаги оқсил таркибини 100% деб қабул қилинса, кўпчилик ҳайвонлар оқили 90-95%; дуккакли ўсимликларни вегетатив ўтларидан олиндиған оқсиллар 80-90%; дуккакли ғалла ва ёғли уруғли ўсимликлар уруғидан, картошкани илдиз мевасидан, сабзавотлардан олинадиган оқсиллар 75-85%; бошоқли ўсимликлар уруғидан олинадиган оқсиллар 60-70%, маккажўхори уруғидан олинадиган оқсил эса атиги 52-58% ташкил қилади. Ҳар бир инсон кунига овқат билан 60 дан 120 гр гача оқсил истеъмол қилиши керак. қишлоқ хўжалик ҳайвонларини яхши боқиш учун уларни озуқалари 100-120 гр яхши ҳазм бўладиган оқсил сақлаши зарур. Агар ҳайвонлар озуқасини ташкил этган ўсимлик таркибида оқсил миқдори кам бўлса, бундай озуқани сифати оқсил концентратлари кўшиш орқали тузатилади (1-жадвал). Худди шу йўл билан озуқа оқсилидаги алмашмайдиган аминокислоталар миқдори ҳам назорат қилинади.

Оқсил моддалари ҳаётий зарур вазифаларни бажариб, ҳар қандай тирик организмларнинг ҳужайраларини ташкил этувчи компонентлардан энг зарурийси ҳисобланади. Оқсил моддалар ҳужайраларда, католитик, бошқариш, транспорт, биоэнергетик, ҳар хил юқумли касалликлардан ва стресс факторлар таъсиридан ҳимоячи, захира ва бошқа вазифаларни бажаради. ўсиб турган ўсимликларда оқсил модда 5 дан 15% гача (қурук модда ҳисобидан), бошоқли ўсимликлар донида 8% дан 18% гача, ёғли ўсимликлар уруғида 16% дан 28% гача, дуккакли ғалла ўсимликлар уруғида

эса 20% дан 40% гачани ташкил қилади. Инсон ва ҳайвон тўқималарида одатда оқсил миқдори 20% дан 80% гачани ташкил этади .

1-жадвал.

Ҳар хил оқсиллар таркибидаги алмашмайдиган оқсиллар миқдори
(100 г оқсилда г ҳисобида)

Амино-кислоталар	Сигир сути	ФАО эталони	Соя	Шоли	Бугдой	Макка-жўхори	Арпа	Нўхат
Лизин	6,6	4,2	6,6	3,5	2,6	2,5	3,2	6,5
Триптофан	1,4	1,4	1,3	1,3	1,3	0,6	1,2	0,8
Метионин	2,4	2,2	1,4	2,9	1,7	2,1	1,7	1,4
Треонин	4,6	2,8	3,8	3,5	2,6	3,2	3,9	3,8
Валин	6,9	4,2	5,4	6,5	4,6	4,4	5,4	4,5
Лейцин	9,9	4,8	7,9	8,0	6,9	11,2	7,2	6,5
Изолейцин	6,6	4,2	5,3	4,6	3,4	2,7	3,5	5,0
Фенилаланин	4,9	2,8	5,1	5,2	4,3	4,1	5,1	4,8

Айтиб ўтилганлардан кўриниб турибдики, хужайраларни ва организм тўқималарини ҳосил бўлиши учун, шунингдек, ҳаётий зарур бўлган функцияларни бир маромда ушлаб туриш учун доимий равишда оқсил синтези амалга ошиб туриши керак. Оқсил молекуласини синтези учун барча тирик организмлар 18 аминокислота ва 2 та аминокислоталарни амидини (аспарагин ва глютамин) ишлатадилар. Аммо, синтез бўлганидан кейин оқсил молекулалари ҳар хил ўзгаришларга (модификацияга) учрашишлари мумкин, оқибатда оқсил таркибидаги аминокислоталар тури 26 тага етган ҳоллари ҳам учрайди.

Ўсимликлар ва кўпчилик микроорганизмлар ўзлари учун зарур бўлган аминокислоталарни оддий моддалардан карбонат ангидрид, сув ва минерал тузлардан синтез қилаолиш имкониятига эга бўлса, ҳайвонлар ва одамлар организмида баъзи-бир аминокислоталар синтез бўлаолмайдилар, шунинг учун ҳам улар организмга ташқаридан тайёр ҳолда киришлари шарт. Бундай аминокислоталарни алмашмайдиган аминокислоталар деб юритилади. Булар: валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан ва фенилаланин мана шу аминокислоталардан бирортаси овқат таркибида бўлмаса, инсонни оғир хасталикка олиб келади, ҳайвон озукасида етишмаган ҳолларда эса, уларни ҳосилдорлигини пасайтириб юборади.

Инсон ва ҳайвонларни алмашмайдиганаминокислоталар билан таъминлаб туриш шартлигини эътиборга олиб, уларни илмий асосланган суткалик ўртача миқдори ҳисоблаб чиқилган. Шундай қилиб, бир одамни бир суткалик алмашмайдиган аминокислоталарга бўлган мухтожлиги қуйидагича (г): валин-5,0; лейцин – 7,0; изолейцин-4,0; лизин –5,5; метионин – 3,5; треонин-4,0; триптофан-1,0; фенилаланин – 5,0.

Инсон алмашмайдиган аминокислоталарни асосан ҳайвон ёки ўсимлик оксил ари орқали олса, ҳайвонларни кўпчилиги фақатгина ўсимлик оксилларидан олишади. Овқат ёки озуқа билан организмга тушган оксил моддалар ошқозон шираси таркибидаги протеаза ферментлари таъсирида аминокислоталаргача парчаланади, ҳосил бўлган аминокислоталар эса инсон ёки ҳайвон оксили синтези учун ишлатилади. Бунда алмашмайдиган аминокислоталарни роли бениҳоядир. Уларни етишмаслиги оксил синтезини тўхтатиб қўяди, бир эса организмни ўсиб ривожланишини чегаралаб олиб келади.

Шуни ҳам ҳисобга олиш керакки, барча алмашмайдиган аминокислоталар озуқа оксили таркибида организмни талабидан келиб чиққан ҳолда маълум нисбатда бўлишлари керак. Агарда улардан бирортаси етишмасдан қолса, қолганлари ҳам оксил синтезида ишлатилмайди, чунки оксилни синтез механизми шуни талаб қилади. Бундай шароитда, оксил моддаларни синтезини давом эттириш овқат ёки озиқа харажатларини ошишига олиб келади. Бундай ҳодисаларни олдини олиш учун, бир томондан озиқа таркибидаги оксил моддаларни, иккинчи томондан эса оксил таркибидаги алмашмайдиган аминокислоталар миқдорини назорат қилиб бориш зарур бўлади. Оксил таркибидаги аминокислоталарни баҳолаш учун уларни биологик озуқа бирлигини аниқлаш керак. Алмашмайдиган аминокислоталарни оптимал миқдорда сақлайдиган озуқа ёки озиқ-овқат оксиллари биологик сифатли оксил деб юритилади.

Бу оксилда фақатгина метионин ва триптофан миқдори бироз пастроқ. Нўхат оксили ҳам нисбатан яхши биологик баҳога эга, аммо бугдой,

маккажўхори, арпа оксиллари таркиби ФАО талабларидан анчагина узоқда. Соя уруғидан олинадиган оксилни аминокислота таркиби ФАО талабларига энг яқин бўлганлиги ҳамда соя уруғида оксил миқдори 35-40% га тенг эканлиги учун бу ўсимлик озиқ-овқат ҳамда озуқа оксили манбаи сифатида кенг ишлатилади. Дунёда сояни энг кўп экадиган мамлакат АҚШ ҳисобланади. Ўзбекистонда ҳам бу ўсимликни ўстириш зарурлиги муҳокама қилиниб, Андижон вилоятида уни экиш бошлаб юборилган. Аммо, бу ўсимликдан юқори ҳосил олиш учун уни агротехникасини ва бошқа бир қатор муоммоларни ечишга тўғри келади.

Дунёни кўпгина илмий лабораторияларида арпа уруғи оксиллини ошириш, уни таркибидаги аминокислоталарни балансга келтириш йўлида селекция – генетика ишлари амалга оширилмоқда. Арпани донидан олинадиган оксил таркибида лизин аминокислотаси кўп бўлган нав билан чатиштириш асосида янги навлар яратилган. Шунингдек буғдой дони бўйича ҳам шунга ўхшаган ишлар амалга оширилмоқда. Бундай ишлар мамлакатимиз қишлоқ ва сув хўжалигига қарашли бир қатор илмий лабораторияларда ҳам олиб борилмоқда. Биотехнология молекуляр биология фанлари ютуқларидан фойдаланиб, ген ва хужайра муҳандислиги усуллари асосида ўсимликларни қимматбаҳо генотипларини яратишга алоҳида эътибор берилмоқда[17-29].

Ҳайвонлар учун озуқа тайёрлашда асосан бошоқли ўсимликлардан фойдаланилади. Шунингдек, бу мақсадда балиқ уни, гўшт суяк уни, гўшт ва сут саноати қолдиқларидан ёғ-мой комбинати кунжарарларидан ҳам кенг фойдаланилади. Балиқ ва суяк унлари ҳамда ҳайвонларни бошқа чиқиндилари озуқа оксили учун ишлатилаётганликлари учун, охириги вақтда уларни ҳар томонлама, тўла қонли алмаштираоладиган янги манбалар топиш йўлида илмий изланишлар тобора кучайиб бормоқда. Ҳар хил организмларни таққослаб ўрганиш оқибатида, кўпгина микроорганизмлардан фойдаланиш ҳам мумкин эканлиги аниқланди [30-32].

Махсус тажрибалар асосида микроб оқсилини озуқавий ҳамда токсикологик хусусиятлари ўрганиб чиқилди ва натижада баъзи – бир микроорганизмлар оқсиллари биологик хусусиятлари бўйича ҳайвон ёки ўсимликдан олинadиган оқсиллардан паст эмаслиги исботланди [29, 42-46].

Микроорганизмларни яна бир устуворлик томони бор у ҳам бўлса тез оқсил масса ҳосил қилиш хусусиятидир. Маслан, 500 кг оғирликдаги соя пишиб-етилиш фазасида бир суткада 40 кг гача оқсил тўплай олса, шундай оғирдикдаги бука атиги 0,5-1,5 кг, ачитки замбуруғининг 500 кг эса 1,5 т оқсил тўплаш имкониятига эга. Озуқа оқсили манбаи сифатида кўпроқ ачитки замбуруғлари ва бактериялар, микроскопик замбуруғлар, бир хужайрали сув ўтлари, ўтли ўсимликларни оқсил қисми ишлатилади [52-53].

2-жадвал

Баъзи бир микроорганизмлар оқсилларида алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори (100 г оқсилга ҳисобида)

Амино-кислоталар	Ачитқилар	Бактериялар	Сув ўтлари	Замбуруғлар	Соя кунжараси	Эталон ФАО
Лизин	6-8	6-7	5-10	3-7	6,4	4,2
Триптофан	1-1,5	1-1,4	0,3-2,1	1,4-2	1,4	1,4
Метионин	1-3	2-3	1,4-2,5	2-3	1,3	2,9
Треонин	4-6	4-5	3-6	3-6	4,0	2,8
Валин	5-7	4-6	5-7	5-7	5,3	4,2
Лейцин	6-9	5-11	6-10	6-9	7,7	4,8
Икулейцин	4-6	5-7	3,5-7	3-6	5,3	4,2
Фенилаланин	3-5	3-4	3-5	3-6	5,0	2,8

Микроорганизмлар озуқа оқсили манбаи сифатида ўсимлик ҳатто ҳайвон организмларига нисбатан бир қатор усутунликга эга эканлиги аниқланган. Энг аввало микроорганизмларда оқсил миқдори жуда ҳам баланд (60% гача қуруқ масса ҳисобида). Оқсил билан бирга микроорганизмлар бир қатор бошқа энг муҳим моддалар, яъни осон сўрилувчи карбон сувлар, тўйинмаган ёғ кислоталарини кўпроқ сақловчи ёғ моддалари, витаминлар, микро ва макроэлементлар синтез қилиш хусусиятига эгадир. Микроорганизмлар асосида унча катта бўлмаган майдонда саноат ишлаб-чиқариш базасини ташкил этиб, катта ҳажмда озуқа концентратлари олиш мумкин [5]. Энг

аввало бундай технология қишлоқ хўжалиги ёки саноат чиқиндилари асосида ташкил қилиниб, фасл ёки оби-ҳавога боғлиқлик жойи йўқ.

1.2. Озуқа ачитқилари

Ачитқи замбуруғлар инсон ва ҳайвонлар учун ишлатиладиган оқсил манбаи сифатида биринчи мартаба Германияда биринчи жаҳон уруши даврида ишлатилган. Ўшанда пиво ачитқилари (*Saccharomyces cerevisiae*) ўстиришни саноат технологияси яратилган бўлиб, олинган маҳсулот озика маҳсулотлари таркибига киритилган эди. Ачитқилар дарахтларни ва бошқа целлюлоза сақловчи модаларни кислотали гидролизатларида ўстирилган. Иккинчи жаҳон уруши вақтида шундай заводларни бири янги йўл шахри яқинига (ҳозир шаҳарга туташиб кетган) кўчириб келинган эди. Кислотали гидролиз оқибатида целлюлоза сақловчи полимерлар, майда шакар мономерларгача парчаланадилар, улар эса ўз навбатида ачитқилар учун жуда яхши озуқа муҳити ҳисобланадилар. Шу мақсадда сомон, пахта шелухаси, кунгабоқар боши, зиғир пояси, маккажўхори пояси, спирт бардаси, ғўзапоядан ва бошқа целлюлоза сақловчи моддалардан фойдаланиш мумкин [61-62].

Майдаланган катта миқдорда клетчатка, гемицеллюлозалар, пентозанлар, сақловчи ўсимлик маҳсулотлари юқори ҳарорат ва босимда кислоталар ёрдамида парчаланади, оқибатда 60-65% полисахаридлар моносакхаридларга айланади. Олинган гидролизат лигниндан ажратилади, гидролиздан ортиб қолган кислота қолдиғи аммиак суви ёки бошқа ишқор ёрдамида нейтраллаштирилади. Бироз тиндирилиб, совурилган гидролизатга минерал тузлар, витаминлар ва бошқамоддалар солинади ва ферментерлар цехига ўтказилади ва ачитқилар экиб, ўстирилади. ўсимлик чиқиндилари гидролизатларида ўстириш учун *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces* ачитқилари мос келиб, улар генсоза, пентоза, органик кислоталарда (гидролиз натижасида ҳосил бўлган) яхши ўсиб ривожланадилар. Оптимал шароитда 1 т дарахт чиқинсидан 200 кг гача озуқа ачитқиси тайёрлаш мумкин [68-72].

Ферментердан чиқариб олинган ачитқи суспензияси махсус насослар орқали флотация (ажратадиган) қиладиган ускурмага юборилади ва у жойда ачитқи биомассаси ўстирувчи муҳитдан ажратилади. Бу жараён давомида ачитқи хужайралари кўпик билан бирга тепага кўтарилади ва суюқликдан декантация йўли билан ажратиб олинади. Бироз тиндириб қўйилгандан кейин ачитқи массаси сепаратор ёрдамида яна ҳам қўйилтирилади. Ачитқиларни ҳайвон организмида яхши сўрилиши учун (хазм бўлиши учун), уларга махсус ишлов берилади (механик, ультратовуш, иссиқлик, ферментатив лизис ва х.к) ва хужайра қобиғини бир текис ёрилишига олиб келинади. Кейин ачитқи массаси кераклича сувсизлантирилади ва қурилади. Тайёр маҳсулотда намлик 8-10 % дан ошмаслиги керак. қуруқ ачитқи массасида 40-60 % оқсил, 25-30 % хазм бўладиган карбон сувлар, 3-5 % ёғ, 6-7 % клетчатка ва кул моддалари, катта миқдорда (50 мг % гача) витаминлар бўлади [78-80].

Ачитқиларга ультрабинафша нурлари таъсир этиш орқали уларда Витамин Д₂ миқдорини ошириш усули яратилган. Д₂ витаминни ультрафиолет нурлар таъсирида ачитқиларда кўп миқдорда бор бўлган эргостеринлардан пайдо бўлади. Тайёр маҳсулотни физикавий хусусиятларини яхшилаш мақсадида уларни гранулалар ҳолатида ишлаб чиқилади. Юқоридагиларни хулосаси сифатида ачитқи тайёрлаш технологиясини қўйидагича изоҳлаш мумкин:

Экув материали → ферментер → флотация → сепарация → хужайраларни парчалаш → қуриштиш → грануляция қилиш.

Ферментация йўли билан ўсимлик чиқиндилари гидролизатларидан ачитқидан ташқари спирт олиш ҳам мумкин. Бу ҳолатда, биотехнологиянинг ўзига хос томони шундан иборатки, гидролиз жараёнида ҳосил бўлган гексозалар энг аввал спирт бижғиш йўли билан спиртга айлантирилади. Ҳосил бўлган спиртни ҳайдаб олингандан кейин таркибида пентозалар сақловчи ишлатилмай қолган субстрат – барда қолади. Мана шу спиртдан кейин қолган барда ачитқи замбуруғлар ўсиб, ривожланиши учун яхши озиқа

мухити ҳисобланади. Шундай қилиб ўсимлик қолдиқлари гидролизатларидан бир вақтни ўзида икки хил энг керакли маҳсулот тайёрлаш мумкин.

Россияда ва бошқа бир қатор нефть қазиб олувчи мамлакатларда озиқа ачитқисини н-парафинлар (нефт таркибидаги) дан тайёрлаш технологияси яратилган ва ишлаб-чиқаришга жорий қилинган. Ачитқи хужайралари ўзларини ўсиб, ривожланишлари учун ягона углерод манбаи сифатида таркибида ундан ўттизтагача углерод сақловчи карбон сувларни ишлатишлари мумкин. Бу моддалар суюқ фракцияда тўпланган бўлиб, уларни қайнаш ҳарорати 200-320⁰С ташкил этади ва нефтдан хайдаш орқали ажратиб олинади.

1.3. Бактериялардан олинadиган оқсил концентратлари

Ачитқилар катори, ҳайвонлар озиқасига қўшиб ишлатиш учун бактериялардан олинadиган оқсил концентратлари ҳам катта аҳамиятга молик. Энг аввало уларни таркибидаги оқсил миқдори 60-80 % ни ташкил этишини таъкидлаб ўтмоқ керак.

Тўлақонли озиқа оқсили олиш учун манба бўлиб хизмат қилаолadиган 30 дан ортиқ бактериялар маълум. Бактериялар, ачитқиларга нисбатан бирнеча баробар тезроқ ва кўпроқ биомасса ҳосил қилиш имкониятига эгалар ва уларни оқсилларида олтингугурт сақловчи аминокислоталарни миқдори ҳам анчагина, шу сабабли ҳам бактериялар оқсиллари, ачитқи замбуруғлари оқсилларига нисбатан кўпроқ биологик баҳога эгалар. Бактериялар ўсиши учун углерод манбаи бўлиб, ҳар хил газсимон моддалар (табiiй газ, газ концентрати ва х.к), тубан спиртлар (метанол, эталон) ва водород хизмат қилишлари мумкин.

Оқсил моддаларни синтез қилиш самарадорлги бўйича водород оксидлайдиган бактерияларга етадигани йўқ. Бу бактерияларни хужайраларида 80% гача оқсил моддалар сақланади (куруқ модда ҳисобидан). Бу бактериялар карбонат ангидридни баъзи штаммлар эса

хаттоки, ҳаводаги азотни утилизация қилиш учун водородни оксидланиш энергиясидан фойдаланадилар. Водород оксидлайдиган бактерияларни ўстириш учун газсимон озук, одатда 70-80 % водород, 20-30 % кислород ва 3-5 % карбонат ангидрид сақлайди. Бундай таркибидаги озук муҳитида бенат ангидрид сақлайди. Бундай таркибидаги озук муҳитида ўстирилганда, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Corenebacterium* ва бошқа авлодга мансуб бактериялар юқори самарадорликга эга бўладилар [78].

Оқсил массаси ишлаб – чиқариш учун керак бўлган водород одатда сувдан, уни электролиз ёки фотохимик парчалаш орқали олинади. Карбонат ангидрид қандайдир саноат ишлаб-чиқаришини газсимолн чиқиндиларидан ёки ёқилиғи газлардан олиниси мумкин, бундай ҳолларда бир йўла газли муҳитни тозалаш муоммоси ҳам ечилади. Водородоксидловчи бактериялар асосида оқсил тайёрлаш технологияси, қўшимча маҳсулот сифатида водород ҳосил қилувчи кимё саноати корхоналарига яқин жойда ташкил этилиши ҳам мумкин.

Одатда озук оқсили ҳайвон озукасига 2,5-7,5%, чўчқаларга баъзан 15% гача қўшиб ишлатилади. Улардан кўпроқ микдорда фойдаланишга тўсқинлик қилиб келаётган муаммо бу оқсил препаратлари таркибидаги нуклеин кислотаси микдорини ўта баландлигидир (10-25% гача) [92]. Бундан ташқари бактериал массада кўплаб фойдали моддалар қатори, қийин сўриладиган ёғсимон моддалар (липидлар) ҳам синтез бўлишидир. Бактериал оқсил препаратларини ажратиш методларини қийинлиги ва уларни баҳоларини баландлиги ҳам бу препаратлардан кенгроқ фойдаланишга салбий таъсир кўрсатиб келмоқда.

1.4. Микроскопик замбуруғлар оқсиллари

Микроскопик замбуруғларни мицелийлари оқсил ва алмашмайдиган аминокислоталарга бой манба ҳисобланадилар. ўзларини озукавий хусусиятлари бўйича мицелиал замбуруғлардан олинадиган оқсил моддалари соя ва гўшт оқсилига яқин туради, шунинг учун ҳам нафақат чорвачиликда,

балки инсон таомларига қўшимча хизмат қилаолади. Мицелиал замбуруғларни саноатда ўстириш учун озуқа манбаи сифатида одатда лигнин, гемицеллюлоза, клетчатка сақловчи ўсимликлар чиқиндилри ишлатилади.

Бунда бир йўла оксил массасини тайёрлаш ҳамда атроф-муҳитни ифлослаштириш манбаи бўлиб, хизмат қилиши мумкин бўлган ўсимликшунослик ҳамда ёғочга ишлов бериш ва целлюлоза - қоғоз саноати чиқиндиларини утилизация қилишдек икки йирик муаммо ўз ечимини топади.

Айниқса, микрофлора таъсирига чидамли бўлган лигнин углеородини утилизация қилиш имкониятига эга бўлган фаол штаммлар яратиш катта аҳамиятга эгадир. Табиатда лигнин фақатгина қўнғир ва оқ рангли чиришни амалга оширувчи *Stropharia*, *Pleurotus*, *Abortiporus*, *Coriolus*, *Sterium* ва бошқа авлодларга мансуб бўлган замбуруғлар иштирокида парчаланади халос. Ҳозирги вақтда чуқур изланишлар оқибатида токсин сақламайдиган, захарсиз, тез ўсувчи мезо ва термофил замбуруғларни штаммлари яратилган ва ишлаб-чиқаришга тадбиқ этилган [96-97]. Бундай штаммлар *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* авлодларига мансуб штаммлардир. Бу замбуруғларни хужайра қобиклари юпқа бўлиб, ҳайвонларни ошқозон-ичак йўлида осон ва тез парчаланади. Уларни таркибида ўзига ҳос ҳид ва маза берадиган ароматик моддалар, витаминлар ва ёғлар бор.

Ачитқи замбуруғларига қараганда мицелиал замбуруғлар оксиллари олтингугурт сақловчи аминокислоталарга бой, ва яхши ҳазм бўлади. Уларни таркибидаги нуклеин кислоталар миқдори (1-4%) ўсимликларникига яқин. Шунинг билан бирга мицелиал замбуруғлар хужайраларида оксил камроқ синтез бўлади (20-60% қуруқ массадан), улар ачитқи замбуруғларига нисбатан секин ривожланадилар ва биомасса ҳосил қиладилар (биомассани икки маротаба кўпайиш даври 4-16 соат, ачитқи замбуруғларида эса 2-3 соат). Целлюлоза ва лигноцеллюлоза сақловчи чиқиндиларда ўстирилган тубан мицелиал замбуруғларнинг гидролитик ферментлар синтез қилиш

хусусияти туфайли лигнин ва целлюлозани оддий моддаларгача парчалаб ташлайдилар ва улардан аминокислоталар ҳамда оксил моддалари ҳосил бўлади. Мицелиал замбуруғларни ўсишини тезлаштириш учун ўсимлик чиқиндиларига дастлабки ишлов бериш (ювиш, иситиш, майдалаш ва х.к) фойдалидир. Кўпроқ ишқорий кислотали ишлов бериш, юқори босимда пар билан ишлов бериш, аммиак ёки каустик сода билан ишлов бериш усулларида фойдаланилади [87, 91].

Мана шундай ишлов беришлар оқибатида лигнин ва бошқа кийингидролизланувчи полисахаридлар қисман парчаланадилар, бу эса замбуруғ массасини тезроқ ўсиб, ривожланишини (7-8 сутка) таъминлайди. ўсимлик маҳсулотларини тайёрланганлигига қараб, микроскопик замбуруғларни ўстиришни тегишли усуллари танланади. Замбуруғларни қаттиқ озуқа муҳитида ўстириш учун қаттиқ фазада ферментация қилиш усули ишлаб чиқилган. Бу усул ўсимлик маҳсулотларини майдалаш, уларга иссиқ пар ёки аммиак суви билан ишлов бериш, уларни минерал моддалар билан тўйинтириш, замбуруғларни экиш ва уларни олдиндан аниқланган.

Аэрация режимида ва мўтадил ҳароратда ўстириш жараёнларини ўз ичига олади. Аммо, замбуруғларни бундай технология асосида ўстиришда, ўсимлик маҳсулотларини ишлатиш коэффиценти жуда паст бўлганлиги сабабли ҳосил бўладиган оксил миқдори ҳам унчалик юқори бўлмаслигини олдиндан билса бўлади. Бу технология асосида етиштирилган замбуруғ массасида оксил 20-30% ни ташкил этади ҳалос. Масалан, тубан мицелиал замбуруғларни тўғридан – тўғри сомонда ёки бошқа ўсимлик чиқиндиларида ўстирилиши шу мманбалардаги углеродни 17-25% тини замбуруғ мицелийсини органик моддаларига ўтишини таъминлайди ҳолос. ўсимлик маҳсулотини ишлатилиш коэффиценти одатда замбуруғларни ҳар хил гидролизатларда ўстирилганда ошади. Маълумки, бунинг учун замбуруғлар суюқ муҳитда маҳсус ферментерларда ўстирилади Бундай шароитда устирилган замбуруғ мицелийсида оксил миқдори 50-60% гача этади. Озуқа

муҳитни кўпроқ ишлатиш мақсадида замбуруғлар билан бактерияларни қўшиб ўстириш мумкин.

Ўсимлик чиқиндиларидан ташқари, торф, гўнг ва бошқа ҳайвон чиқиндиларни оқсилга айлантириш усуллари ҳам яратилган. Замбуруғлардан олинадиган оқсил моддаларини ҳайвон организмида енгил сўрилиши, ҳамда уларни таркибига нуклеин кислоталарини нисбатан камлиги, булардан ачитки оқсиларига нисбатан кўпроқ миқдорда ишлатиш имконини яратади. Одатда ҳайвон болаларини озиқлантиришда озиқа рационига 15-20% замбуруғ оқсили қўшиш тавсия этилган. Ёши катта ҳайвонлар рационига эса 50% гача замбуруғ оқсили қўшиш мумкин.

1.5. Ўсимликлардан олинадиган оқсил концентратлари

Сифатли озиқа ва озиқ овқатоқсилени, манбаини топиш йўлида олимлар азал-азалларидан фақатгина табиий ўсимликлардан овқатланиб келаётган ёввойи ҳайвонларни ҳаётини, уларни овқатланиши ва ривожланишини синчиклаб ўрганиб келганлар. Энг қизиғи шундаки, улар ўз ҳаётлари учун ягона, ҳар йили қайтадан ўсиб чиқадиган ўтлардан фойдаланадилар-у аммо ҳеч қандай алмашмайдиган аминокислоталар, ёғ кислоталари ёки витаминларга муҳтожлик сезмайдилар.

Тадқиқотлар шуни кўрсатадики ўтларнинг таркибидаги оқсил моддаларни синтез тезлиги бир-бирларидан фарқ қилсада, ана шу оқсиллар таркибидаги алмашмайдиган аминокислоталар миқдори барча ёввойи ўтларда бир-бирига яқин экан (3-жадвал). 3-жадвалдан кўриниб турибдики, ўтлар таркибидаги аминокислоталар миқдори бўйича ФАО эталонидан ҳам баландроқ бўлиб, фақатгина метионин миқдори биров камроқ экан. Илмий тажрибалар, барча хилма-хил ўтлар орасида дуккакли ўсимликларни яшил озиқа қисми, ўзларини биологик хусусиятлари бўйича бошқалардан устун туришлигини кўрсатди (80-90%) [88-89].

Ўтли ўсимликларни вегетатив массасидаги оксилардаги алмашмайдиган аминокислоталарни миқдори (100 г оксил таркибида г ҳисобида)

Аминокислоталар	Ўтли ўсимликлар	ФАО эталони
Вален	5,9 - 6,9	4,2
Икулейцин	4,5 - 5,5	4,2
Лейцин	8,8 - 10,2	4,8
Лизин	5,6 - 7,3	4,2
Метионин	1,6 - 2,6	2,2
Треонин	4,7 - 5,3	2,8
Триптофан	1,2 - 2,3	1,2
Фенилаланин	5,5 - 6,8	2,8

Бу ўсимликларни яшил қисмида ҳам оксил миқдори бошқаларга нисбатан кўпроқ (15-25% қуруқ модда ҳисобидан). Энг кўп оксил беда ўтида экан. Ўтларни вегетатив массасидаги оксиллар таркибидаги аминокислоталарни етарлилиги, бу ўсимликларни баргларида ҳам оксил синтези жадал амалга оширилиши ва ниҳоят уларни таркибидаги оксил миқдорини нисбатан баландлиги, яшил ўсимликларни вегетатив массасидан оксил ажратиш олишни самарали технологиясини яратишни тақазо қилди. Дастлаб манашундай экспериментлар 1773 йилда ўтказилган [96, 99]. Бу тажрибаларда оксил яшил ўсимликлардан сиқиш (преслаш) орқали чиқариб олинган. Аммо, кейинроқ ўсимлик шарбатида оксилдан ташқари бир қатор зарарли моддалар: феноллар, оғир металллар, трипсинни ингибитори (трипсин ҳайвон ва инсон ошқозони сокидаги оксил парчаланишида фаол иштирок этувчи фермент), нуклеин кислоталар, алкалоидлар, хлорофилл парчаланишида ҳосил бўладиган моддалар ва ҳ. к. борлигини кўрсатди. Юқорида келтириб ўтилган моддалар кўпроқ ядро, хлоропластларда, митохондрияда учраса цитоплазмада уларни миқдори камроқ. Мана шу натижалардан келиб чиққан ҳолда озуқа ёки озиқ-овқат оксиллини цитоплазмадан ажратиш мақсадга мувофиқлиги аён бўлди.

Собиқ иттифокда ўсимлик шарбатидан оксил ажратишни саноат технологиясини 1942 йилда ташкил этилган эди [101]. Катта миқдорда провитамин А-каротин сақловчи оксил концентратлари ярадорларни даволашда ишлатилар эди. 1960 йилларни бошларида ўсимлик оксили олиш технологияси яратилиб, ишлаб чиқарилган маҳсулот чорвачиликда қулланилади.

Бундай ускурмалари чорвачилиги ривожланган чорва моллари учун махсус экув майдони ажратилган ҳар бир ҳужаликда ташкил қилиш мумкин. Оксил концентрацияси тайёрлаш технологияси ўсимлик массасини майдалаш, шарбатини сиқиб чиқариш, шарбатни сиқиб чиқариш, шарбатни кофуляция қилиш, коагулятни творогсимон яшил масса ва қўнғир рангли шарбатга ажратиш, оксил витамин пастасини консервация қилишни ўз ичига олади. Шундай қилиб, ўсимлик массасига ишлов бериш орқали уч хил озуқа тайёрлаш мумкин: оксил коагуляти (чўкмаси), бундан оксил витамин концентрати тайёрланади: шарбат сиқиб олингандан кейин қолган ўсимлик маҳсулотлари (жом ҳолатида).

1.6. Микроорганизмлар биомассасидан озуқа оксили тайёрлаш

Бирлашган Миллатлар Ташкилотининг озиқ-овқат маҳсулотлари ва қишлоқ ҳўжалиги бўлимининг берган маълумотларига кўра озуқа оксилига бўлган танқислик дунёда йилига 10 млн. тоннани ташкил этади.

Мана шу етишмовчиликни тўлдириш учун энг истиқболли йўл микробиологик синтез эканлиги кўп сонли, экспертлар томонидан кўрсатиб берилган. Мана шу йўл билан олинган, ҳайвон ва паррандалар учун озуқа сифатида ишлатиладиган оксил маълум талабларга жавоб бериши керак, озиқ-овқатга ишлатилиши мўлжалланган оксил моддалари эса яна қатор талабларга жавоб беришлари шарт. Биринчидан, озиқ-овқатга мўлжалланган оксил фракцияси бутунлай паст молекуляр метаболитлардан тозаланган бўлиши ҳамда токсик хусусиятга эга бўлган оксил моддаларини бутунлай

сақламаслиги керак. Шу мақсад учун ҳар хил таксономик гуруҳга мансуб бўлган микроорганизмлардан озуқа оксили ажратиш усуллари яратилган.

Озуқага мўлжалланган оксил концентрати, (уни яна изолят ҳам деб юритилади) махсус санитар-гигиеник, иқтисодий, технологик ва экологик талабларга жавоб беришдан ташқари маълум озуқа бирлигига эга бўлиши шарт.

Саноатда ишлаб чиқариладиган оксил препаратлари уч категорияга бўлинади. Биринчи категория кам миқдорда оксил сақловчи – (20-25% гача) препаратлар. Иккинчи категория юқори миқдорда оксил сақловчи оксил концентратлари (60-70%), ва ниҳоят учинчи – 80% дан кўпроқ оксил сақловчи оксил изолятлари. Оксил фракцияларини ажратиб олиш ва тозалаш уларни сақлаш муддатини узайтиришга олиб келади. Бунга сабаб препарат таркибида бўлган, енгил оксидланувчи ҳужайра компонентларининг олиб ташланганлигидир. Бу кўпроқ липидларга таалуклидир. Маълумки, оксил билан липидларнинг ўзаро таъсири лизин билан метиониннинг парчаланишига олиб келади, бу эса оксилнинг озуқалик хусусиятини пасайтиради. Бундан ташқари липидларнинг оксидланиши озуқа маҳсулотга ўхшамаган ранг беради. Озуқа учун тайёрланган оксил инсон саломатлиги учун зарарли бўлган бирикмалардан озод бўлиши керак.

Ўсимлик ва ҳайвон оксилларига бўлган талаблар микроб оксиллари учун ҳам сақланиб қолади, аммо микроб оксилларига яна қўшимча санитар-гигиеник талаблар қўйилади. Мана шу талабларга жавоб берган микроблардан олинган оксиллар ҳар хил кўринишда озиқ-овқатга қўшимча сифатида ишлатилади: бутун биомасса (асосан липидлар ва нуклеин кислоталардан тозаланган), ҳар хил тозаликка эга бўлган оксил фракциялари шулар жумласидандир [102-104].

Ғарбий Европада микроб биомассасидан озиқ-овқат саноатида фойдаланиш анча қийинчиликларга дучор бўлмоқда. Шунга қарамасдан АҚШ ва бошқа қатор мамлакатларда ачитқи замбуруғи биомассасининг 10 хил тури овқатга қўшимча сифатида ишлатилиб келинмоқда.

Аниқ озуқа мақсадларидан келиб чиққан ҳолда биомассани қайта ишлаш технологияси бир-биридан фарқ қилади. Ачитқи замбуруғининг биомассасани дезинтеграция (майдалаш, бузиш) қилишнинг ҳар хил усуллари маълум, механик (майдалаш), кимёвий (сувсиз аммиак, ишқорий, кислотали муҳит) физик (ультратовуш) ва қатор бошқа бирин-кетин келадиган усуллар шулар жумласидандир. Уларнинг мақсади биомасса таркибидаги оксил моддаларини тўлиғича экстракция қилиб олишдир. Деярли барча ҳолатларда оксиллар биомассасидан ишқорий муҳитда (рН 9,0-14,0 гача) маълум ҳароратда (40-90°C) яхши ажралади.

Бу усулнинг ҳам ҳар хил модификацияси маълум. Улардан кўпроқ ишлатиладигани икки босқичли экстракциядир. Микроб биомассасидан оксил моддаларни кислотали (рН 1,0-3,0) муҳитда ҳам экстракция қилса бўлади. Изолятда оксил миқдори кўп бўлсада, уларнинг таркибида олтингугурт сақловчи аминокислоталар миқдори жуда кам бўлади. Ишқорий шароитда оксил экстракция қилинганда эритмага нуклеин кислоталар кўпроқ чиқади, шунинг учун ҳам кейинги босқичда уларни олиб ташлашга тўғри келади. Оксилдан нуклеин кислотани ажратишнинг энг оддий йўли – бу 50-70°C да 1-4 соат мобайнида ишлов беришдир. Баъзи ҳолларда эритмаларга эндо- ва экзонуклеазалар билан ишлов берилади, бунда нуклеин кислоталар паст молекуляр асосларгача пачаланади ва оксилдан осон ажралади. Липидларни олиб ташлаш учун саноатда ишлатиладиган бир неча йўллар маълум. Шулардан бири липидларни изопропанол ва этанол билан икки босқичли экстракция қилиш. Шунингдек, биомассада липидлар метанол ёрдамида ҳам экстракция қилиб олинади, бунда ажратиб олинadиган липидларнинг миқдори 2% га камайиши кузатилган [107].

Умумий қабул қилинган усуллардан ташқари, камроқ тарқалган технологик ёндошишлар ҳам маълум. Хуллас, ҳар-бир манба учун қўйилган вазифаларга, шунингдек чиқариладиган маҳсулотнинг сифати ва унга қўйилган талабларга қараб тозалаш усуллари танланса мақсадга мувофиқ бўлади.

1.7. Махсулдор продуцентларни хужайра инженерлиги асосида яратиш усуллари

Микроорганизмларнинг табиий штаммларини ҳосилдорлиги кўпинча талаб даражасидан паст бўлади. Ҳосилдор штаммлар яратиш учун йўналтирилган селекция усулидан фойдаланилади (1-чизма). Бунинг учун кимёвий мутагенлар ёки радиацион нурлардан фойдаланилади. Селекция ва танлов ишлари баъзида йиллаб вақт эгаллайди ва натижада микроб ҳосилдорлигини 100 ва ундан ҳам кўпроқ маротабалаб ошириш мумкин бўлади. Масалан, ҳозирги даврда саноат усулида ишлатиб келинаётган пенициллин антибиотики синтез қиладиган продуцентнинг фаоллиги дастлабки штаммларга қараганда 10 минг маротабадан ошиб кетган[12].

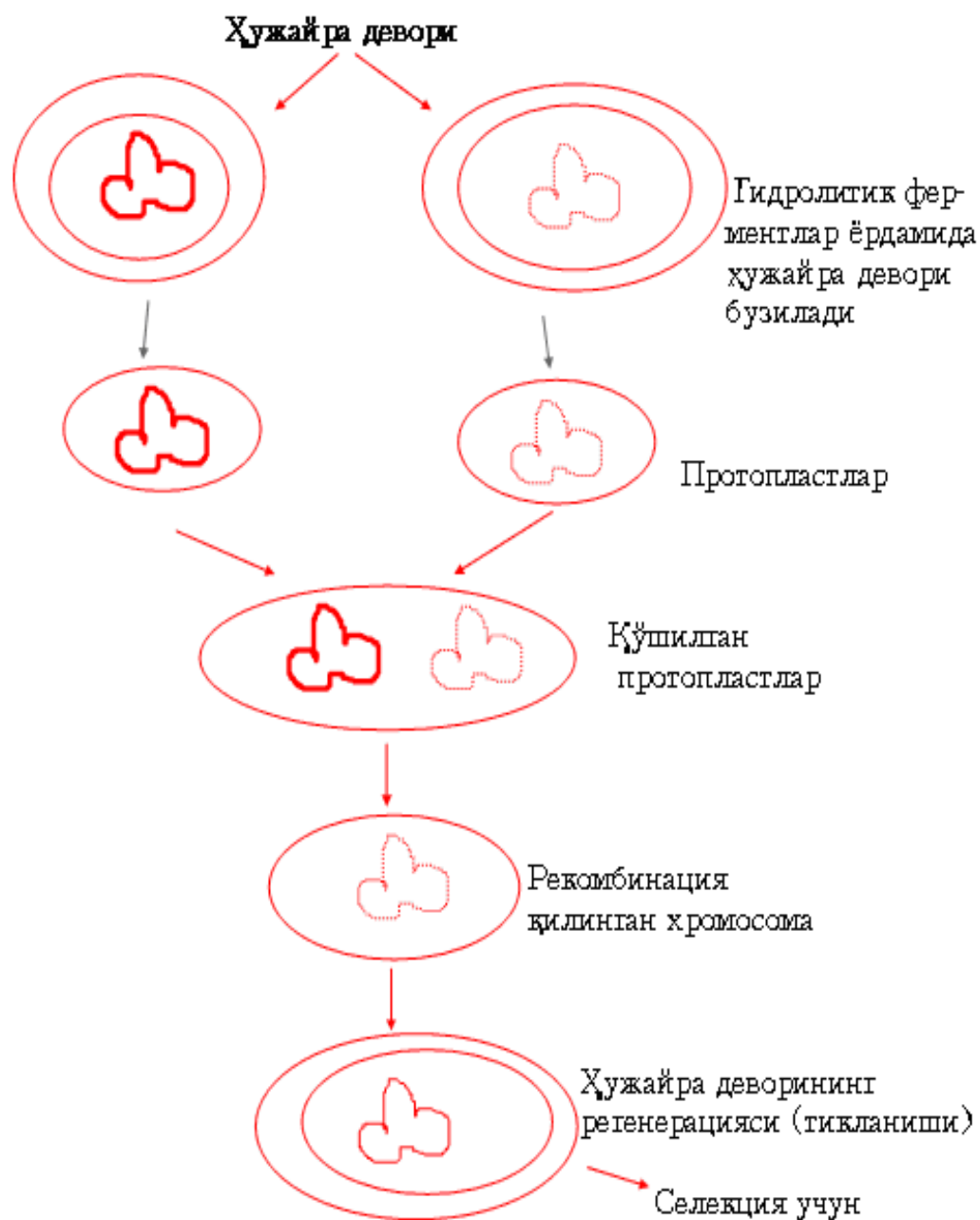
Юқори фаолликга ёки ҳосилдорликга эга бўлган штамм яратиш учун селекционер, табиий штаммни генетик материалларини ўрганиш борасида ўта мураккаб, ўта нафис ишларни амалга ошириши лозим бўлади. Бунда, генларнинг рекомбинацияси билан боғлиқ бўлган барча усуллардан, хусусан: конъюгация, трансдукция, трансформация ва бошқа генетик жараёнлардан фойдаланишга тўғри келади. Масалан, конъюгация усули (бактериялар орасида генетик материаллар алмашиш), нефт қолдиқларини фаол парчаловчи *Pseudomonas putida* штаммини яратишда самарали фойдаланилган эди [17-19].

Кўпинча трансдукция (бактерия вируслари-бактериофаглар ёрдамида бир бактериядан бошқа бактерияга генлар ўтказиш) ва амплификация (керакли генларни нусха сонини кўпайтириш) усулларида кенг фойдаланиш орқали ҳар хил физиологик фаол моддалар синтез қилувчи ҳосилдор штаммлар яратилган. Кўпгина микроорганизмларда антибиотик синтез қилувчи генлар ва уларни бошқарувчилари хромосомаларда эмас, балки плазмидаларда (хромосомадан ташқаридаги ДНК) жойлашган бўлади.



1-чизма. Микроорганизмлар селекцияси

Бундай пайтда амплификация орқали ҳужайрадаги плазмидалар сонини кўпайтириш орқали штаммларнинг ҳосилдорлигини ошириш мумкин. Селекция ишларини яна бир йўли бу ҳар хил бактериялар протопластларини бир-бирига бирлаштириш натижасида генетик рекомбинантлар олиш йўлидир (2-чизма). Масалан: *Streptomyces reptomyces* бактериясининг икки хил штаммларидан олинган протопластларни бир-бирларига бирлаштириш оқибатида С-рифамицин синтез қилувчи ҳосилдор штамм яратилган. Рифамицин синтез қилмайдиган *Nocardia mediterranei* штаммлари протопластларини бир-бирларига қўшиш оқибатида рифамицинни 3 янги ҳосиласини синтез қилувчи штамм яратилган [17-19].



2-чизма. Протопластларнинг қўшилиши орқали махсулдор мутант штаммлар олиш механизми

Протопластларнинг қўшилиши орқали табиий шароитда бир-бирлари билан қўшилмайдиган микроорганизмларни генетик материалларини бирлаштириш ҳам мумкин.

1.8. Сув ўтларидан олинадиган озуқа оксиллари

Дунёнинг кўплаб мамлакатларида бир хужайрали сув ўтлари: *Chlorella* ва *Scenedesmus* шунингдек, *Spirulina* авлодига мансуб кўк-яшил сув ўтлардан озуқа оксили тайёрлаш йўлга қўйилган. Бу ўсимликлар қуёш нури энергиясидан фойдаланиб карбонат ангидрид, сув ва минерал моддалардан оксил ва бошқа органик моддалар синтез қиладилар. Уларни ўстириш учун кўп миқдорда сув, керакли миқдорда ёруғлик ва ҳарорат бўлса кифоя. Иссиқ жанубий минтакаларда сув ўтларини очик ҳавзаларда ўстириш йўлга қўйилган бўлсада, ёпиқ яримстерил ҳолатда ўстириш юқори сифатли оксил моддалари ва бошқа органик моддалар ишлаб чиқариш имкониятини яратади [58, 96].

Хлорелла ва сценедесмус авлодларига мансуб сув ўтлари ўзларининг ўсишлари учун нейтрал муҳитни талаб қиладилар, уларнинг хужайра қобиқлари мустаҳкам целлюлозадан ташкил топганликлари учун ҳам ҳайвон организмида яхши ҳазм бўлмайди. Уларнинг яхши сўрилишлари учун махсус ишлов бериш талаб қилинади.

Спирулиналар хужайралари хлореллага нисбатан 100 маротаба каттароқ, аммо қалин целлюлоза қобиғи бўлмаганлиги учун улар организмда яхши сўрилади. Спирулиналар ишқорий муҳитда ўстирилади (рН 10-11), табиатда ҳам ишқорий кўлларда ёки ҳавзаларда кўпроқ тарқалган.

Сув ўтлари биомасса тўплаш тезлиги бўйича ачитқи замбуруғлари ва бактериялардан пастроқ бўлсада, қишлоқ хўжалик ўсимликларидан анча устунликка эга. Очик типдаги махсус ўстиргичларда ўстирилганда 1 гектар майдондан йилига 70 тонна қуруқ биомасса олиш мумкин. Таққослаш учун қуйидаги сонларга эътибор беринг: 1 гектар майдондан 3-4 тонна ғалла; 5 тонна шоли; 6 тонна – соя; 7 тонна маккажўхори олиш мумкин, холос.

Хлорелла ва сценедесмус хужайраларида оксил миқдори (қуруқ массага нисбатан) 45-55%, спирулинада эса 60-65% ташкил этади. Сув ўтларидаги оксил таркибидаги алмашинмайдиган аминокислоталар миқдори ҳам баланд,

фақат метионин камроқ, холос. Сув ўтларида тўйинмаган ёғ кислоталари ҳам кўпроқ синтез бўлади (баъзи бирлари алмашмайдиган ёғ кислоталари сафига киради). Шунингдек, провитамин А–каротин (150 мг% гача), В гуруҳига кирувчи витаминлар кўплаб синтез қилинади. Сув ўтлари таркибидаги каротин миқдори беда унга нисбатан 7-9 маротаба кўпроқ. Бир хужайрали сув ўтларида нуклеин кислоталар миқдори (4-6%), бактерияларга нисбатан камроқ бўлсада, ўсимликлардан олинadиган оксил таркибидагидан (уларда 1-2%) кўпроқни ташкил этади.

Сув ўтлари хужайраларидан оксил массаси олиш технологияси қуйидаги босқичлардан иборат: махсус танланган штаммни ўстириш (очиқ ёки ёпиқ типдаги ўстиргичларда); сув ўтларини сувдан ажратиш (сепарация); суспензия ҳолатидаги маҳсулот олиш; пастасимон ёки куруқ кукун ҳолатидаги маҳсулот тайёрлаш. Сув ўтлари хужайраларини сувдан ажратиш кўп миқдорда энергия талаб қилаётган жараёндир. Чунки сувнинг миқдори жуда ҳам кўп, куруқ моддалар миқдори эса жуда ҳам кам.

Сув ўтларини ўстириш ёпиқ ва очиқ усулда амалга оширилади. Ёпиқ усулда ўстириш тўлиқ бошқарилсада, ўстириш технологияси мураккаб ва унинг таннархи юқоридир. Очиқ усулда ўстириш ярим бошқарилади ва ўстириш технологияси оддий, таннархи эса анча арзон.

Дунёни бир қанча мамлакатларида (Япония, Исроил, Болгария, Мексика, Туркманистон, Ўзбекистон ва ҳ.к.) сув ўтларини очиқ усулда ўстириш технологияси яратилган. Улар бир-бирларига ўхшаш бўлганликлари сабабли, Ўзбекистон Фанлар Академиясининг академиги, профессор Аҳрор Музаффарович Музаффаров томонидан яратилган устқурмага диққатингизни тортишни маъқул кўрдик:

Сув ўтлари ўстириш устқурмасининг узунлиги 10 метр, эни 2 метр, чуқурлиги 30 смли охур (лоток) шаклидаги, ўзидан сув ўтказиб юбормайдиган устқурмада 15 см чуқурликда 3 тонна хлорелла суспензияси етиштириш мумкин. Бунинг учун устқурмага 3 тонна сувга 600 г аммонийнинг сульфатли тузи, 90 г калий дигидрофосфат, 240 г магнийнинг

сульфатли тузи, 300 г натрий гидрокарбонат ва 3-5 хил микро- элементлар кўшиб эритилади ва унга 30 л 1—15 кун давомида ўстирилган хлорелла суспензияси куйилиб, сув махсус насос ёрдамида аралаштириб турилади.

Ўстириш давомида карбонат ангидрид (CO_2) махсус балонларда минутага 0,1-0,2 л миқдорда ротометр оркали ўлчаб юбориб турилади. Ўзбекистон шароитида табиий қуёш ёруғлиги етарли бўлиб, ҳарорат 16 дан 39°C орасида бўлиши мақсадга мувофиқдир. Орадан 9-10 кун ўтгач (ёз кунлари 6-7 кунда) 1 л озуқа муҳитида 1,5-3,0 грамгача хлорелла хужайралари сақлаган суспензия етилиб тайёр бўлади. Хлореллани қиш фаслида ҳам ўстириб, фойдаланишга эҳтиёж бўлганда, дастгоҳнинг устини ойна ёки полиэтилен пленкаси билан ёпиш kifоя.

Тайёр суспензиядан бузоқларни озиклантиришда фойдаланиш мумкин. Битта бузоққа бир суткада 3-6 л, катта ёшли ҳайвонларга эса 8-10 л суспензия бериш тавсия этилган. Ковуш қайтарадиган ҳайвонларда 50% ўсимлик оксилини хлорелла оксили билан алмаштириш мумкинлиги исботланган.

Сув ўтларини оқава сувларда ўстириш катта аҳамиятга эга. Масалан, сценедесмус ёки хлорелла чорвачилик комплекси оқава сувларда ўстирилганда 15 кун давомида, ифлос оқава сувларни органик моддалардан бутунлай тозалаш мумкин, бунда сувни ранги ўзгариб, ҳиди йўқолади. Сув ўтларини саноат оқава сувларида ёки иссиқлик берувчи станцияларни оқава сувларида ўстирилганда ортиб қолган иссиқлик ҳамда технологик жараёнда ёки ҳар хил чиқиндиларни ёқишдан пайдо бўлган карбонат ангидриди ишлатилади, оқибатда эса қўшимча биомасса олинади.

Хлорелла ўстириш бўйича энг йирик компания – «Хлорелла Сан Компани» Японияда ташкил этилган [78-82]. Болгариянинг иссиқ сув табиий манбаларида хлорелла ва сценедесмус ўстириш усуллари яратилган. Шу мамлакат олимлари томонидан қобиғида целлюлоза сақламайдиган хлорелла штаммлари яратилган, бу эса олинган биомассанинг ҳайвон организмида тез ҳазм бўлишини таъминлайди. Спирулина марказий Африка ва Мексикани ишқорий табиатли сув сақлаган кўлларида кўплаб экилиб, биомасса

тўплайди. Спирулина биомассасидан оксил ва бошқа маҳсулотлар ишлаб чиқарадиган энг йирик компания Мексиканинг «Соса Текскоко» фирмасидир. Италияда денгиз сувларида спирулина экиб ўстириш ҳамда ёпиқ типдаги ўстиргичларда биомасса олиш устида илмий изланишлар давом эттирилмоқда.

Спирулина сув ўтининг биомассаси ошқозон ферментлари томонидан яхши парчаланиши ҳамда ундаги оксил миқдори жуда ҳам баланд бўлиб (70% гача), организм учун зарур бўлган аминокислоталарга бой бўлганлиги сабабли, у оксилга бой бўлган кондитер таомлар тайёрлаш учун ишлатилади. Спирулина сервитамин ва ноёб ёғ кислоталар манбаи сифатида, таблетка ҳолатида тиббиётда ҳам ишлатилиб келинмоқда.

Саноат шароитида ишлатиладиган сув ўтларининг қўшимча оксил манбаи сифатида чорвачиликда ҳамда одамлар овқатланишида мувоффақиятли ишлатилиши дунё олимлари олдида ҳар хил йўналишда яъни: селекция, генетика, биокимё ва бошқа соҳаларда изланишлар олиб боришнинг бош масалалардан бири қилиб қўйди. Мақсад янада ҳосилдорроқ, фотосинтезни жадалроқ олиб борадиган, алмашинмайдиган аминокислоталарга бой, совуқроқ шароитда ҳам яхши ўсиб ривожлана оладиган, организмда яхши сўриладиган, витаминларга бой штаммлар яратишдир. Бундай мақсадга албатта ген муҳандислиги усулларисиз етишиш амри маҳолдир.

Ўзбекистонда сув ўтларидан унумли фойдаланиш бўйича бир қатор ишлар амалга оширилган. Юқорида келтириб ўтилганидек, бу ишларга академик А.М.Музаффаров бошчилик қилганлар. Бугунги кунда домланинг шогирдлари б.ф.д., профессор Х.А.Бердикулов, б.ф.д., профессор Р.Ш.Шоякубов, б.ф.д., профессор Ж.Қ.Қутлиев ва бошқалар сув ўтлари асосида янги замонавий биотехнологиялар яратиш йўлида самарали меҳнат қилмоқдалар.

1.9. Озуқа еми классификацияси, турлари, кимёвий таркиби ва озуқавийлик қийматлари

Озуқа еми деганда, қишлоқ хўжалиги ҳайвонлари учун қўлланиладиган озуқавий қийматга эга, тез ҳазм бўладиган ва зарарли таъсирга эга бўлмаган озуқа маҳсулотлари ёки уларнинг аралашмасидан ташкил топган маълим бир кимёвий таркиб ҳамда озуқавий қийматга эга маҳсулотлар тушунилади.

Чорвачиликда маҳсулдорлик ва сифат кўрсаткичларига эришишда энг асосий ҳал қилувчи рол озуқа еми ва унга қўшиладиган турли хил кимёвий таркибга эга бўлган ем қўшимчаларининг баланслаштирилганлигига боғлиқ бўлиб қолади. Озуқа еми ва қўшимчалари турли хил кимёвий таркиб, озуқавий қиймат ва физик шаклларига кўра фарқланади.

Озуқа еми ишлаб чиқаришни ташкил этишда асосий факторлар сифатида, технологик жараённинг қулайлиги ва арзонлиги, хом-ашёнинг яқин ҳудудда жойлашганлиги, тайёрланадиган озуқа ёки қўшимчанинг озуқавийлик қиймати, унинг экологик кўрсаткичлари, озуқанинг ёки қўшимчанинг ҳайвон организмида ҳазм бўлиш имконияти ва ҳ.к. ларни келтириб ўтиш мумкин. Шунингдек, тайёрланган озуқадаги микробиологик флора, оксил табиатли бўлмаган азотли бирикмалар ва минерал таркиби ҳам аҳамият касб этади.

Яшил озуқалар. Ушбу тур озуқаларга қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг таъбий ҳолатдаги ва сунъий ҳолатда ўстирилган ўсимликлар, уларнинг новдалари, барглари, туганаклари ёки илдизлари киради. Уларнинг бир биридан фарқлари намлиги бўйича 70-83% атрофида фарқланади. Қуруқ маҳсулот сақлашига кўра юқори даражада протеин, минерал моддалар ва витаминлар сақлаши билан характерланади ва фарқланади. Улар таркибида 12-15% хом оксил, 4-5% хом ёғ, 15-18% клетчатка, 45% гача оксилли-витаминли моддалар ҳамда 8-11% хом куллар сақлайди.

Энергетик қувватига (1,0-1,2 МДж энергия алмашилишида) ва ўзлаштириладиган протеин сақлашига кўра яшил озуқалар ўсимлик

концентратларига (шарбатларига) яқинроқ туради. Аммо, протеиннинг биологик қиймати ва витаминлар сақлашига кўра юқори туради. Ўсимликлар вегетацион ривожланиши давомида озукавийлик қийматлари ўзгариб туради: протеин сақлаши камаяди, каротин ва клетчатка миқдори ошади, натижада энергетик қуввати ва ўзлаштирилиш даражаси пасайиб кетади.

Яшил ўсимликларнинг озукавий қиймати ва кимёвий таркиби ўстириладиган жойи, тури. Агротехник ишлов бериш, йиғиштириб олиш даври, фасллар каби факторларга боғлиқдир.

Қуритилган табиий ва суний дағал озуқалар. Буларга турли хил ўсимликлик донлари ва уруғларини киритиш мумкин. Масалан, ўтларнинг уни, ўсимлик новдаларининг кесиб қуритилгани, сомонларнинг барча турлари, шелуха, ва ҳ.к.

Ушбу гуруҳга кирувчиларнинг асосий характерли томони уларнинг таркибида клетчатканинг кўплигидир: бедада -18-32%, сомонда-42% гача, қирқилган ва қуритилган ўтларнинг унида-15-28% гача. Ушбу озуқаларнинг озукавий қиймати қай даражада клетчатка сақлаши ва озуқани тайёрлаш технологиясига боғлиқ бўлади. Турли хил турларга мансуб беда навларининг 1 килограммида 5,5-8,0 МДж энергетик қувват, 30-80 г қайта ишланадиган протеин, сенажда эса, 3,5-5,0 МДж энергетик қувват, 45-105 г қайта ишланадиган протеин; сомонда эса - 3,7-6,9 МДж энергетик қувват, 5-35 г қайта ишланадиган протеин; ўтлардан тайёрланган унда эса - 7,3-8,6 МДж энергетик қувват ва 80-150 г қайта ишланадиган протеин сақлайди.

Юқорида келтирилган манбалар асосида Республикамиз миқёсида озуқа еми ва унинг қўшимчаларига бўлган талаб ечилиши лозим бўлган энг долзарб масалалардан бири деб ҳисоблаш мумкин.

Шу боисдан магистрлик диссертация ишимда кам энергетик қувватга эга бўлган қишлоқ хўжалик қолдиқ махсулотларининг энергетик қувватини ошириш масаласида илмий тадқиқот олиб боришга қарор қилдим.

2.БОБ. ТАЖРИБА МАНБАЛАРИ ВА УСУЛЛАРИ

2.1. Тажриба манбалари. Ушбу магистрлик диссертация ишимда Тошкент кимё-технология институти, Биотехнология кафедрасида сақланаётган микромицетлар коллекциясидаги *Fusarium moniliforme*-112 ҳамда *Trichoderma harzianum*-10 штаммларидан фойдаланилди.

Ушбу культураларни доимий сақлаш ва одатий экув жараёнлари учун *Mendels* озуқа муҳитидан фойдаланилди. Углерод манбаларининг замбуруғ фаоллигига таъсирини ўрганиш мақсадида куйидагилардан фойдаланилди: пахта толаси, фильтр қоғози, КМЦ, целлобиоза, крахмал, сахароза, арабиноза, ксилоза, глюкоза, лактоза. Бунинг учун, буғдой сомони, *Mandels* озуқаси билан 60% гача намлаб 28⁰С да 5 кун мобайнида ўстирилди [27].

Замбуруғлардан протопластлар олишнинг шарт шароитлари: Тажрибада, *Streptomyces afganiensis*-7 культурасидан олинган эритувчи фермент целлоафганиндан 20мг/мл (рН-7.0) микдоридан фойдаланилди. Дастлабки протопластларнинг ҳосил бўлиши мицелияни эритувчи фермент таъсирида 4 саот давомида ўстирилганда кузатилди. Ушбу жараёнлар учун куйидаги осмотик стабилизаторларнинг 0.4-0.7 М концентрациясидан фойдаланилди: NaCl, сахароза, MgSO₄, маннит, KCl [93].

Текширишларни асосан МБИ-3 ёруғлик микроскопида олиб бордик (ЛОМО, Россия). Культураларни бўяшда фуксин бўёғидан фойдаланилди [10].

Тажрибаларимизда протопластларни қўшиш мақсадида, молекуляр массаси 4000 га тенг бўлган сувда эрувчан, полимер полиэтиленгликол (ПЭГ) дан фойдаландик. Протопластлар аралашмаси хона хароратида кальций хлор қўшилган ПЭГ эритмасида 1 соат давомида ушлаб турилди. Кейинги тажрибаларда 1 мл да 10 дона протопласт бўлган аралашмадан фойдаландик [102, 106].

Тажриба усуллари. Протопластлар аралашмасидан 0.25 мл олиб 50 мл хажмдаги агар-агарли Чапек озукаси солинган Петри лycopчаларига экилди. Протопластларни 30⁰С ҳароратда 5-7 кун давомида ўстирдик. Ҳар бир тажрибада назорат сифатида иккитадан тажриба ўтказдик.

- 1- биринчи назорат – ҳар бар ота-она штаммлар протопластларини алоҳида алоҳида ўша озукa муҳҳитига экилди.
- 2- Иккинчи назорат – жинсий қўшилиш жараёни йўқлигини аниқлаш учун ота-она штамлари протопластларини стабилизаторсиз ўша озукa муҳҳитига экилди.

Суспензияни ишқорлик ёки кислотали муҳҳити рН-метр асбоби орқали ва универсал рН қоғози орқали аниқланди. Объектларнинг биокимёвий таркиби умум қабул қилинган услублар асосида олиб бoрилади [94]. Каротин Мурри услубида [57], аскорбин кислотаси 2,6 дихлориндофeнол билан титрлаш йўли билан [106], оксил Кьeлдаль бўйича [19], карбонсувлар Андрoпов услубида [57], липидлар 3:1 нисбатли хлороформли метанол аралашмаси билан экстракция қилиш йўли билан [83] аниқланади.

Тадқиқот услублари. Замбуруғларнинг культурал ва физиолого-биокимёвий хусусиятлари, белгилари микробиология фанида қабул қилинган ва умумий қабул қилинган услублар орқали аниқланди. Аниқлашда Герхард таҳрири остида 1984 йилда чоп этилган «Методы общей бактериологии» А.И.Нетрусов таҳрири остида 2005 йилда чоп этилган «Практикум по микробиологии» номли китоблардан фойдаланилди.

Озуқа муҳҳити 0,8-1,0 атм. босимида 30 дақиқа давомида стерилизация қилинди. Стерилизация қилиниб, совутилган озукa муҳҳитининг рН кўрсаткичи 7,0-7,2 га тенг. Зарур ҳолларда рН NH₄ОН ёки HCl нинг суюлтирилган эритмалари ёрдамида корреляция қилинди.

Шакарсимон моддаларнинг миқдорини аниқлашда Нельсон [3.65] усулидан фойдаланилди. Бунда Шомоди ва Нельсон реактивлари қўлланилди. Шомоди реактиви иккита эритмадан (А ва Б) тайёрланади.

А эритма: 24 г Na₂CO₃ 250 мл дистилланган сувда эритилади. Олинган

эритмага аралаштирилган ҳолда $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (4 грами 40 мл сувда), сўнгра эса 16 г NaHCO_3 қўшилади.

Б эритма: 180 г NaSO_4 500 мл қайноқ сувда (80°C) эритилади ва 5 дақиқа мобайнида қайнатилади.

А эритмаси Б эритмасига аралаштирилади ва 1000 мл ҳажмга етгунча дистилланган сув қўшилади. Олинган эритма хаворанг тусда бўлади, у Шомоди реактиви деб аталади. Эритма тўқ тусли идишларда 2-3 ойгача сақланиши мумкин.

Нельсон реактиви: 25 г аммоний молибдат 450 мл қайноқ (60°C) дистилланган сувда эритилади. Эритма $5-10^\circ\text{C}$ гача совтилади ва таркибида 3 г натрий арсенат бўлган 21 мл концентрланган сульфат кислотаси қўшилади. Эритма ҳажми 500 мл га етказилади. Аралашма 40°C да 24-46 соат мобайнида инкубация қилинади, сўнгра зарур ҳолларда филтрланади. Реактивни 2-3 ой сақлаш мумкин.

Нельсон услубининг моҳияти шундан иборатки, намуналардаги шакарсимон моддалар молибден кўки ҳосил бўлган ҳолда аниқланади. Молибден кўкининг рангги 24-36 соат мобайнида барқарор туради. Рангнинг оптик зичлиги калориметр билан аниқланади. Бунинг учун даражаланган 15-20 мл ҳажмли пробиркага 1 мл Шомоди реактиви ва 1 мл тадқиқ қилинаётган эритма солинади. Пробирка 40 дақиқа қайнаб турган сувли ҳаммомга қўйилади, сўнгра совитилади ва 1 мл Нельсон реактиви қўшилади. Пробирка силкитилади ва сув билан 10 мл ҳажмга етказилади. Олинган эритманинг оптик зичлиги 610 нм тўлқин узунлигида 1 см кюветада аниқланади.

Таққослаш учун худди шундай йўл билан олинган эритмадан фойдаланилади (фақат бунда намуна ўрнига сув аралаштирилади). Қайтарувчи шакарлар концентрацияси стандарт сифатидаги глюкоза бўйича калибрловчи график ёрдамида аниқланади. Калибрловчи график $1,10^{-4}$ - $1,10^{-3}$ м (20-180 мкг/мл) глюкоза концентрацияси диапазонидаги чизиқли кўринишга эгадир.

3. БОБ. ОЛИНГАН НАТИЖАЛАР ВА УЛАРНИНГ МУХОКАМАСИ

3.1. *Fusarium* ва *Trichoderma* замбуруғларининг оксил ҳосил қилиш хусусиятига углерод ва азот манбаларининг таъсири

Углерод манбаларининг замбуруғ фаоллигига таъсири. Охирги йилларда целлюлоза маҳсулотларини аэробли парчалаш йўли билан микроб оксилларини олишга катта эътибор қаратилмоқда. Микромицетлар хужайралари катта миқдорда ферментлар ҳосил қилиш ва натижада турли хил чиқиндиларни парчалаб, оксил моддаларига айлантириш хусусиятига эга (Бабицкая., 1977). Замбуруғлар биомассаси таркибида 50% гача, протеин, 4.5-5.0% ёғ, “В” гуруҳига мансуб витаминлар ҳамда 0.6-2% гача нуклеин кислоталар мавжуд. Адабий манбаларда, таркиби целлюлозасиз муҳитларда микроорганизмлар ўсиб оксил ҳосил қилиш қобилияти тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Диссертация ишимизнинг мазмун моҳиятидан келиб чиқиб асосий манба углерод манбаларининг фаол оксил ҳисол қилувчи штаммларининг ўсишига таъсирини аниқлаш мақсадида, пахта толаси, фильтр қоғози, лактозани озуқаларга қўшиб тажрибалар олиб бордик. Тажрибалар шуни кўрсатадики, ажратиб олинган фаол штаммларни пахта толаси қўшилган озуқада ўстирганимизда уларнинг оксил ҳосил қилиш фаоллиги 13.2% ва 12.8% ни ташкил этди (3.1.1-жадвал). Фаол штаммлар лактоза қўшилган озуқада 3 кун ўстирилганда жуда тез ривожланиши кузатилди ва уларнинг оксил ҳосил қилиш фаоллиги ҳам юқори бўлганлиги аниқланди (14.6% ва 13.8%).

Ажратиб олинган фаол штаммларга углерод манбаларининг таъсирини ва уларнинг ўз ўсиш вақти давомида қанча миқдорда оксил ҳосил қилганлигини ўрганиш мақсадида, уларни ҳар хил ўсимлик қолдиқларидан тайёрланган қаттиқ озуқа муҳитларида ўстириб кўрдик.

3.1.1-жадвал

Ажратиб олинган фаол штаммларнинг оксил ҳосил қилишига турли хил
углерод манбаларининг таъсири (суюқ озугага 2% қўшилган)

№	Углерод манбаси	Оксил % ҳисобида	
		Fusarium moniliforme-112	Trichoderma harzianum-10
1	Пахта толаси	13.2	12.8
2	Фильтр қоғози	14.4	15.6
3	КМЦ	16.2	15.4
4	Целлобиоза	13.8	12.9
5	Крахмал	14.2	13.8
6	Сахароза	13.4	13.0
7	Арабиноза	14.0	13.6
8	Ксилоза	13.6	13.0
9	Глюкоза	13.9	13.2
10	Лактоза	14.6	13.8

Бунинг учун, буғдой сомони, Mandels озугаси билан 60% гача намлаб 28⁰С да 5 кун мобайнида ўстирганимизда Fusarium moniliforme-112 штамми 7.8%, Trichoderma harzianum-10- штаммида эса 7.3% оксил ҳосил бўлиши аниқланди.

Вўза баргини Mandels озугаси билан 60% гача намлаб, 28⁰С ҳароратада 5 кун ўстирганимизда Fusarium moniliforme-112 штамми 15.2%, Trichoderma harzianum-10- штаммида 14.8%, шоли саноати чиқиндисиди эса бир қанча камроқ, Fusarium moniliforme-112 штамми 15.0%, Trichoderma harzianum-10- штаммида эса 14.0% оксил ҳосил бўлганини кузатдик (3.1.2-жадвал).

3.1.2-жадвалдан кўриниб турибдики, фаол штаммларнинг кўп миқдорда оксил ҳосил қилишида буғдой кепаси энг қулай углерод манба бўлиб хизмат қилар экан. Демак ўсимлик қолдиқларини, айниқса шоли саноати чиқиндиси, буғдой кепаси, буғдой сомони, ғўза барги, майдаланган маккажўхори сўтасини Mandels озугаси билан 60% гача намлаб, 28-30⁰С ҳароратда озуга

муҳити кўрсаткичини pH-6.0-6.5 оралиғида ушлаб, 5 кун мобайнида замбуруғлар ўстирилганда энг юқори фаолликка эришилди.

3.1.2-жадвал.

Фаол штаммларнинг ўсимлик қолдиқларида ўстирилганда оқсил ҳосил қилиши, % ҳисобида

№	Углерод манбаси	Fusarium moniliforme-112			Trichoderma harzianum-10-		
		3-кун	4-кун	5-кун	3-кун	4-кун	5-кун
1	Шоли саноати чиқиндиси	9.8	13.6	15.0	9.0	13.3	14.0
2	Бугдой сомони	5.4	6.2	7.8	5.0	5.8	7.3
3	Вўза барги	12.0	13.6	15.2	11.6	12.6	14.8
4	Бугдой кепаги	15.6	16.4	20.4	13.4	14.7	19.4
5	Майдаланган маккажўхори сўтаси	4.0	4.6	5.1	4.3	4.8	5.0

Олинган маълумотлар натижалари шуни кўрсатадики, фаол штаммлар ҳақиқий целлюлоза ва пахта толасида қандай оқсил фаоллигига эга бўлган бўлса, тажриба учун олинган ўсимлик қолдиқларида ҳам худди шундай фаолликка эга экан. Озуқа таркибидаги целлюлозали ўсимлик қолдиқларини 3% гача оширганимизда оқсил миқдори ошиб бориши ҳам кузатилди.

Оқсил ҳосил бўлиш жараёни нафақат пахта толаси ёки филтр қоғозида, балки ҳар хил ўсимлик қолдиқларида ҳам яхши суратларда боради. Тажрибадан шундай хулосага келиш мумкинки, фаол штаммларнинг кўп миқдорда оқсил ҳосил қилиши учун бугдой кепаги, бошоқли экинлар сомони, майдаланган маккажўхори сўтаси, шоли саноати чиқиндилари қулай углерод манбалари бўлиб хизмат қилади. Демак, ҳар хил ўсимлик қолдиқлари таркибидаги целлюлозанинг миқдор даражаси ҳам оқсил ҳосил бўлишига турли хилда таъсир кўрсатади.

Азот манбаларининг замбуруғ фаоллигига таъсири. Оксил ҳосил килувчи микромицетларни ўстириш давомида азот манбаи сифатида таркибида азот сақловчи минерал ва органик моддалардан фойдаланилди. Микромицетлар томонидан азотнинг ўзлаштирилиши нафақат уларнинг табиатига, балким, озуқа таркибидаги азотнинг қандай ҳолатда эканлигига ҳам боғлиқ бўлади.

Оксил ҳосил бўлиш тезлиги, микроорганизмларнинг озиқланиш учун зарур бўлган ҳар хил минерал моддаларнинг ҳамда таркибида азот ва углевод сақловчи моддаларнинг ўзаро насбатлари билан боғлиқдир. Шу мақсадда биз замбҳар хил азот манбаларида ўстириб, оксил ҳосил бўлиш тезлигини ўргандик.

Олинган маълумотлар шуни кўрсатадики, ишлатилган фаол штаммларни 0.5% - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи қўшилган озуқада ўстирганди, уларнинг оксил ҳосил қилиш қобиляти ошди. Бунда *Fusarium moniliforme*-112 штамми 23.4%, *Trichoderma harzianum*-10- штамми эса 23.0% оксил ҳосил қилди (3.1.3-жадвал).

3.1.3-жадвал

Оксил ҳосил бўлишига ҳар хил азот манбаларининг таъсири

(биомасса таркибидаги оксил, 2%-гача буғдой кепагида, % ҳисобида)

№	Азот манбаи	Концентрация, %	Оксил ҳосил бўлиши, соатларда					
			Fusarium moniliforme-112			Trichoderma harzianum-10		
			48	84	120	48	84	120
1	KNO_3	0.1	14.2	18.4	19.6	14.2	17.2	18.0
		0.2	15.0	19.2	19.4	16.4	16.4	18.2
		0.3	16.4	19.0	20.0	15.2	19.0	20.0
		0.5	17.0	18.6	19.4	16.4	18.2	19.4
2	NaNO_3	0.1	15.6	17.0	18.4	14.2	15.6	16.0
		0.2	18.4	20.0	20.6	17.8	19.6	20.4
		0.3	17.2	18.6	19.5	16.4	17.0	18.2
		0.5	16.2	16.8	17.4	15.8	16.4	17.4
3	NH_4NO_3	0.1	14.4	15.2	16.0	14.0	14.6	15.1
		0.2	15.4	17.1	19.2	14.5	16.1	16.4
		0.3	16.2	18.4	19.4	15.4	18.2	19.4
		0.5	14.0	15.6	16.2	14.6	15.8	18.0

4	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.1	14.0	15.2	16.0	13.8	14.6	15.2
		0.2	14.6	17.1	19.2	14.0	15.4	17.1
		0.3	15.4	18.0	18.2	15.0	16.4	17.6
		0.5	14.4	15.6	18.0	14.0	15.0	16.2
5	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.1	16.4	17.2	18.4	16.0	19.2	20.2
		0.2	17.4	18.4	19.6	16.4	18.2	19.4
		0.3	18.6	19.2	20.4	17.3	19.3	20.5
		0.5	21.4	22.6	23.4	20.2	22.8	23.0
6	Мочевина	0.1	14.2	16.4	17.2	13.8	14.6	15.8
		0.2	15.0	17.8	20.6	14.2	16.1	17.4
		0.3	16.2	19.4	21.3	15.4	17.6	19.5
		0.5	14.8	15.8	16.4	14.2	14.8	15.6
7	Пептон	0.1	15.4	16.2	17.2	14.8	15.6	16.4
		0.2	16.2	18.6	19.4	15.4	17.2	18.5
		0.3	19.5	20.4	21.6	18.6	20.4	21.3
		0.5	18.4	19.2	20.5	17.2	19.2	20.1
8	Назорат		13.4	14.0	14.6	13.8	13.8	14.3

Кўпчилик изланувчилар фикрича, оддий озуқаларда оксил ҳосил бўлиши учун кўшимча азотли органик моддалар ишлатилиши талаб этилади. Шунинг учун ҳам озуқага таркибида азотли органик моддалар бўлган ҳар хил ўсимлик қолдиқларини, яъни маккажўхори сўтаси, ачитқи экстрактлари ва бошоқли экинлар чиқиндиларини кўшиш мақсадга мувофиқдир.

Фаол штаммларни майдаланган бошоқли экинлар сомони, маккажўхори сўтаси, шоли қипиқларидан тайёрланган озуқага 0.1% гача маккажўхори экстракти кўшиб ўстирилганда, озуқа муҳити pH кўрсаткичи кислотали томонга ўзгарди. Маккажўхори экстракти 0.5-0.8% дан кўпроқ кўшилганда оксиллар ҳосил бўлишига салбий таъсир қилиши аниқланди.

Табиийки, маккажўхори экстракти 0.8% дан ортиқ кўшилганда, экстракт таркибидаги баъзи бир моддалар оксиллар парчаланишини вужудга келтирсада, микромицетларнинг ўсишига салбий таъсир қилмайди.

Бундан ташқари биз *Trichoderma harzianum*-22 ва *Fusarium solani* var. *agrillaceum*-9 замбуруғларини азотли тузлар кўшилган сут зардобидида ўстириб, уларнинг биомасса ва протеин ҳосил қилишини ўргандик. Тажрибалар натижасида замбуруғларнинг биомасса ҳосил қилишига

(NH₄)₂SO₄ тузи энг муҳим азот манбаи бўлиб хизмат қилишини аниқладик. Энг кўп миқдордаги биомасса ва протеин ҳосил бўлиши, сут зардобига 12 г/л миқдорида (NH₄)₂SO₄ тузи қўшиб, замбуруғларни ўстирганимизда кузатилди. Бунда *Trichoderma harzianum*-22 ва *Fusarium solani* var. *agrillaceum*-9 замбуруғларида 34.2 ва 31.2 г/л биомасса ҳосил бўлди, оксил эса *Trichoderma harzianum*-22 штаммида 45.2%, *Fusarium solani* var. *agrillaceum*-9 штаммида эса 39.0% ни ташкил этганлигини кузатдик (3.1.4-жадвал).

3.1.4-жадвал

Сут зардобига *Trichoderma harzianum*-22 ва *Fusarium solani* var. *agrillaceum* - 9 замбуруғ штаммларининг биомасса ва оксил ҳосил қилишига азот манбаларининг таъсири

Озуқа манбалари	<i>Trichoderma harzianum</i> -22		<i>Fusarium solani</i> var. <i>agrillaceum</i> - 9	
	биомасса, г/л	оксил, %	биомасса, г/л	оксил, %
Сув билан 1:1 нисбатда аралаштирилган сут зардоб, назорат	12.4	16.4	11.2	18.2
Мочевина, 8 г/л	32.2	37.4	36.1	33.4
Мочевина, 12 г/л	33.4	39.0	29.5	36.2
(NH ₄) ₂ SO ₄ - 8 г/л	32.6	41.0	30.4	35.0
(NH ₄) ₂ SO ₄ - 12 г/л	34.2	45.2	31.2	39.0
Аммиак 25 мл/л	28.6	29.4	27.0	29.0
Аммиак , 10 мл/л	24.5	26.7	26.4	27.0

Сут зардобига 12 г/л миқдорида мочевино қўшилганда биомассанинг ҳосил бўлиши *Trichoderma harzianum*-22 штаммида 33.42%, *Fusarium solani* var. *agrillaceum*-9 штаммида эса 29.5% га ошди, оксил эса 39.0 ва 36.2% н, айнаи вақтда назорат тажрибада биомасса миқдори 12.4 ва 11.2% ни, оксил эса 16.4 ва 18.2% ни ташкил этганлигини аниқладик.

Жадвалдан кўриниб турибдики, сут зардобига 25 мл/л миқдорида аммиак қўшиб замбуруғлар ўстирилганда, биомасса ва протеин ҳосил бўлиши *Trichoderma harzianum*-22 штаммида 28.6 г/л биомасса, *Fusarium solani* var. *agrillaceum*-9 штаммида эса 27.9 г/л ни, протеин эса мувофиқ равишда 29.4 ва 29.0% ни ташкил этди.

Юқоридаги келтирилган маълумотлардан кўриниб турибдики, замбуруғларни 0.5% ли (NH₄)₂SO₄ тузи қўшилган озуқада ўстирилган

шароитдагина улар энг юқори даражада оксил ҳосил қилаолиши кузатилди. Бунда *Fusarium moniliforme*-112 штамми 23.6%, *Trichoderma harzianum*-10-штамми эса 23.0% оксил ҳосил қилди.

Ҳозирги пайтда жаҳоннинг кўпгина давлатларида хужайра генетикаси усуллари билан янада фаолроқ штаммлар яратиш устида илмий изланишлар олиб борилмоқда. Шу мақсадда биз энг фаол штаммлардан хужайра муҳандислиги усулларида фойдаланган ҳолда янада фаолроқ штаммлар яратиш учун тажрибалар олиб бордик, ҳамда *Fusarium moniliforme*-112 ва *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғларидан протопластларини қўшиш орқали янги штаммлар яратдик.

3.2. *Fusarium* ва *Trichoderma* замбуруғларидан юқори оксил синтезловчи штаммлар яратиш

3.2.1. Замбуруғлардан протопластлар олишнинг қулай шарт шароитларини яратиш

Мицелияли замбуруғлар селекциясида протопластларни қўшиб, дуругайлар яратиш энг долзарб йўналишлардан бири ҳисобланади. Кутилган натижаларни қўлга киритиш учун, протопластларни олиш, уларнинг хужайра қобиғини тиклаш ва қўшилиши учун қулай шароитларни яратиш зарур бўлади. Тажрибада, *Streptomyces afganiensis*-7 културасидан олинган эритувчи фермент целлоафганин 20мг/мл (рН-7.0) микдорида олиб протопластлар олишда фойдаланиш самарали эканлиги исботланди. Дастлабки протопластларнинг ҳосил бўлиши мицелияни эритувчи фермент таъсирида 4 саот давомида ўстирилганда кузатилди (3.2.1-жадвал).

Ҳосил бўлган протопластлар ҳажми жиҳатидан бир биридан фарқ қилиши аниқланди. Дастлаб ҳосил бўлган протопластларнинг шакли бир мунча йирикроқ, яъни 3.5-4 мкм бўлган бўлса, тажриба охирида эса кичик 1.5-2 мкм катталиқдаги протопластлар ҳосил бўлди. Шундай қилиб, тажриба асосида целлоафганин ферменти таъсирида замбуруғ мицелиясининг

протопластлар ҳосил бўладиган ҳар хил катталиқдаги бўлакчаларга ажралиб кетиши аниқланди. Тажрибамизда протопластларнинг ҳосил бўлишидаги бошқа фарқлар кузатилмади. Протопластларнинг ҳосил бўлиши учун қулай ҳарорат 28-30⁰С эканлиги кузатилди.

3.2.1-жадвал

Турли хил нисбатдаги целлоафганин ферментининг протопластлар ҳосил бўлишига таъсири

Целлоафганин ферменти концентрация, мг/мл	Протопластлар сони, 1мл 10пр/мл	
	<i>Fusarium moniliforme</i> -112	<i>Trichoderma harzianum</i> -10
1	0.5	2.4
10	2.9	3.4
20	4.6	7.0

Протопластлар олишда осмотик стабилизатор сифатида ҳар иккала замбуруғ учун ҳам бир хил бўлган 0.4 ва 0.7 М NaCl эритмасидан фойдаландик. Тажрибаларнинг кўрсатишича *Fusarium moniliforme*-112 штамми учун 0.7 М NaCl ва *Trichoderma harzianum*-10- штамми замбуруғи учун эса 0.4 М NaCl эритмаси қулай стабилизатор эканлиги аниқланди (3.2.2-3.2.3-жадвал).

3.2.2-жадвал.

Fusarium moniliforme-112 замбуруғи штаммида протопластларнинг ҳосил бўлишига осмотик стабилизаторларнинг таъсири

Осмотик стабилизаторлар	Концентрация, М	Протопластлар сони, 1мл 10 пр/мл
NaCl	0.4	1.0
	0.7	5.0
Сахароза	0.4	4.3
	0.7	4.0
MgSO ₄	0.4	1.2
	0.7	3.6
Маннит	0.4	1.0
	0.7	3.4
KCl	0.4	2.0
	0.7	3.0

Маълумки, озуқа муҳитининг реакцияси протопластларнинг турғунлигига сезиларли таъсир кўрсатади. Бизнинг тажрибамизда эса

протопластларнинг турғунлиги учун озуқа рН муҳити 6.0-7.0 бўлиши қулай эканлиги аниқланди.

3.2.3-жадвал.

Trichoderma harzianum-10 замбуруғи штаммида протопластларнинг ҳосил бўлишига осмотик стабилизаторларнинг таъсири

Осмотик стабилизаторлар	Концентрация, М	Протопластлар сони, 1мл 10 пр/мл
NaCl	0.4	6.0
	0.7	1.6
Сахароза	0.4	2.3
	0.7	4.3
MgSO ₄	0.4	1.5
	0.7	1.0
Маннит	0.4	4.4
	0.7	2.15
KCl	0.4	4.1
	0.7	5.75

Протопластлар ҳосил бўлгандан сўнг, хужайра деворининг тикланиши учун қуйидаги тажрибаларни олиш бордик. Тажрибада *Fusarium moniliforme*-112 ва *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғларидан олинган протопластлар хужайра деворининг тикланиши учун 0.4 М сахароза эритмаси қўшилган Чапек озукаси қулай эканлиги исботланди. Ҳар иккала замбуруғ штаммларида ҳам тикланган протопластлар сони, суспензиядаги умумий протопластлар сонига нисбатан 90-95% ни ташкил этди.

3.2.2. Микромицетлардан дурагайларни олиш

Натижалари қуйида тавсифланган тажрибаларимизда протопластларни қўшиш мақсадида, молекуляр массаси 4000 га тенг бўлган сувда эрувчан, полимер полиэтиленгликол (ПЭГ) дан фойдаландик. Протопластлар аралашмаси хона ҳароратида кальций хлор қўшилган ПЭГ эритмасида 1 соат давомида ушлаб турилди. Кейинги тажрибаларда 1 мл да 1ғ дона протопласт бўлган аралашмадан фойдаландик. Протопластлар аралашмасидан 0.25 мл олиб 50 мл ҳажмдаги агар-агарли Чапек озукаси солинган Петри лycopчаларига экилди. Протопластларни 30⁰С ҳароратда 5-7 кун давомида ўстирдик. Ҳар бир тажрибада назорат сифатида иккитадан тажриба ўтказдик:

3- биринчи назорат – ҳар бар ота-она штаммлар протопластларини алоҳида алоҳида ўша озуқа муҳҳитига экилди.

4- Иккинчи назорат – жинсий қўшилиш жараёни йўқлигини аниқлаш учун ота-она штамлари протопластларини стабилизаторсиз ўша озуқа муҳҳитига экилди.

Юқорида келтирилган ҳар иккала типдаги назорат тажрибаларида дуругайлар ҳосил бўлиши кузатилмади. Шундай қилиб, тажрибаларимиз натижалари асосида иккита ҳар хил туркумга мансуб замбуруғлар протопластларини қўшиб, оқсил ва ферментлар ҳосил қилиш хусусияти юқори бўлган формаларни олиш мумкинлиги кўрсатиб берилди.

3.2.3. Дурагай штаммнинг морфологик хоссалри ва оқсил ҳосил қилиш хусусиятларини ўрганиш

Қўшилган протопластларнинг хужайра қобиғи тиклангандан кейин уларни баъзи компонентлар жиҳатидан камбағал бўлган озуқа муҳҳитига эдик. Бундай шароитда протопластларнинг кўпчилиги ота-она штаммларига ажралиб кетишини кузатдик. Ушбу фактдан баъзи бир протопластлар охиригача қўшилмаган экан деган хулосага келиш мумкин. Бу каби штаммларнинг кўпчилигида оқсил ҳосил қилиш қобилияти сут бўлди. Лекин уларнинг баъзилари 3-4 қайта экилгандан кейин ҳам ўзаро қўшилиш қобилиятини сақлаб қолди. Бошқача айтганда, улар тўлиқ қўшилган протопластлар ҳисобланиб, уларнинг оқсил ҳосил қилиш қобилияти ўта юқори бўлди. Янги олинган дурагай штаммлар бир қанча белгилари бўйича ота-она штаммлардан тубдан фар қилди: морфологик белгилари, Чапек озуқасида ўсиши, ранги, колониясининг тузилиши ва бошқа жиҳатлари бўйича.

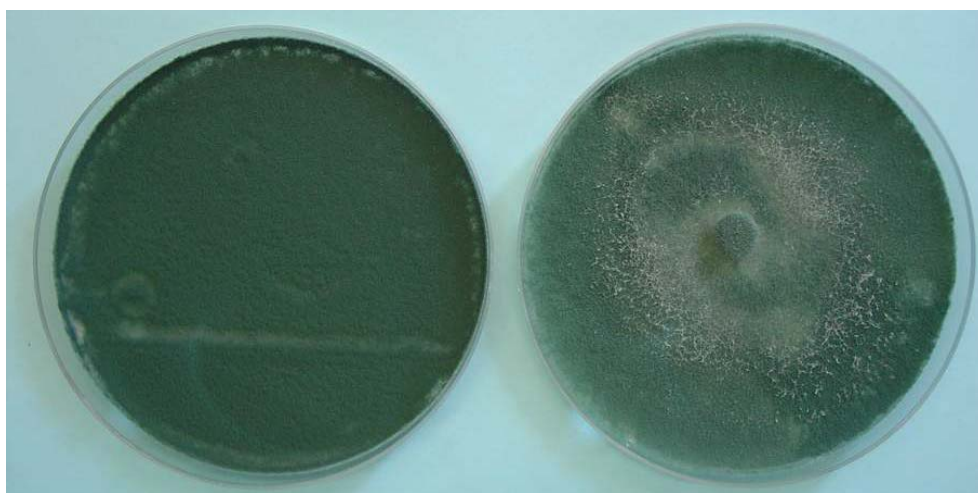
Айниқса ва энг муҳҳими, дурагай штаммларнинг оқсил ҳосил қилиш қобилияти ота-она штаммларга нисбатан 2-3 марта юқори бўлди.

Шундай қилиб, ўтказган тажрибаларимиз натижасида, *Fusarium moniliforme*-112 ва *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғларидан протопластлар

олдик ва уларни кўшиш натижасида дурагай штаммлар олишга эришдик. Олинган дуругай штаммлар ота-она белгиларига тамомила ўхшаш белгиларни ҳам намоён этди. Дурагай штамм *Trichoderma harzianum*-10 дан яшилроқ рангни олган бўлса, *Fusarium moniliforme*-112 дан эса у колонияларининг яхши ривожланиб, пахтасимон кўринишни мерос қилиб олганлиги аниқланди (1-2 расм).



1-расм. Ота она дурагай штаммлари яъни, *Trichoderma harzianum* (А) ва *Fusarium moniliforme*-112 (Б) нинг Чапека озуқа муҳитида ўсиши



2-расм. Янги дуругай штамминг (FT-2) Чапека озуқа муҳитида ўсиши

Чапек озуқасида дуругай колониялар яшилроқ, пахтасимон, дастлаб эса-оқ рангда бўлди. Колониялари орқа томондан оч сарик рангда кўринади. Бу белгилари эса *Fusarium moniliforme*-112 га таълуқлидир.

Конидия устунчалари текис бўлиб, икки хил кшринишда: 1-иккита ёки учта шохланган, лекин бирмунча йирикрок, 80-100 мкм узунликда, худди *Trichoderma harzianum* -10 нинг белгиларини такрорлайди. 2- конидия устунчалари ягона, калтарок, текис, ранги оч сарғиш, яъни бу белгилари *Fusarium moniliforme*-112 га хосдир. Конидиялари силлиқ, эллипсиссимон, узунчоқрок, рангсиздир. Шундай қилиб, *Trichoderma harzianum*-10 ва *Fusarium moniliforme*-112 замбуруғ штаммларидан протопластлар олиш, уларни қўшиш ва турғунлигини аниқлаш устида биз олиб борган тажрибалар натижасида бир қатор асосий шарт-шароитлар аниқланди.

Fusarium moniliforme-112 замбуруғидан кўп миқдорда протопластлар ажралиб чиқиши учун 0.7 М NaCl эритмаси, *Trichoderma harzianum* замбуруғини қўллаб, шу натижаларга эришиш учун эса 0.4 М NaCl эритмаси қулай ҳисобланади.

Streptomyces afghanensis-7 ферментининг таъсирини ўрганиш учун уни 20 мг/мл миқдорида рН 7.0 бўлган фосфорли буферда эритиб, фойдаланиш мақсадга мувофиқдир. Шундай шароитда 4 соат давомида *Fusarium moniliforme*-112 замбуруғ штаммидан 4.6 10⁹пр/мл, *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғ штаммидан эса 7 10⁹пр/мл протопласт ажралиб чиқади. Шу усул билан олинган протопластларнинг ўз хужайра қобиғини тиклаб олиш кўрсаткичлари 90-95% ни ташкил этади.

Ундан ташқари, қўшилган протопластларни ҳар хил озуқа муҳитларида экиб, хужайра қобиғини тиклаш қобилятини аниқлаш мақсадида уларни таркибида осмотик стабилизатор сақловчи “камбағал” ва меъёрий Чапек озукаларига экдик. *Fusarium moniliforme*-112 ва *Trichoderma harzianum* -10 замбуруғ штамм замбуруғлари протопластларнинг ўз хужайра қобиғини тиклаб олиш қобиляти 0.4М сахароза қўшилган Чапк озукаси муҳитида энг юқори даражада ўтади.

3.2.4. Дурагай штаммларнинг оксил ҳосил қилиш даражасини ўрганиш

Шуни таъкидлаб ўтиш жоизки, ажратиб олинган юқори даражада оксил ҳосил қилиш қобилятига эга бўлган микромицетларнинг селекцияси жараёнида олинган янги штаммларнинг қандай оксил манбаига эга эканлигини аниқлаш масаласига алоҳида эътиборни қаратдик.

Шунинг учун ҳам биз янги олинган дурагай штаммларда оксил ҳосил бўлиш жараёнини ва дурагай шакллариининг турғунлигини махсус ўтказилган тажрибаларда ўрганиб чиқдик.

Олинган дурагай штаммларни ҳар хил ўсимлик қолдиқларида, яъни шоли саноати чиқиндиси, майдаланган буғдой сомони, ғўза барги, буғдой кепаги, майдаланган маккажўхори сўтасида ўстириб, уларинг оксил ҳосил қилиш хусусиятини ўргандик (3.2.4.1-жадвал).

3.2.4.1-жадвал

Танланган ота-она ва дурагай штаммларнинг турли ўсимлик қолдиқларида оксил ҳосил қилиш хусусиятлари, %

Ўсимликлар чиқиндиси	Fusarium moniliforme- 112			Trichoderma harzianum-10			Дурагай FT-2		
	3 кун	4 кун	5 кун	3 кун	4 кун	5 кун	3 кун	4 кун	5 кун
Шоли саноати чиқиндиси	9.8	13.6	15.6	9.0	13.3	14.0	11.9	14.8	17.4
Буғдой сомони	5.4	6.2	7.8	5.0	5.8	7.3	9.4	10.2	13.4
Вўза барги	12.0	13.6	15.2	11.6	12.6	14.8	13.3	15.1	17.3
Буғдой кепаги	15.6	16.4	20.4	13.4	14.7	19.4	20.0	25.1	28.2
Майдаланган маккажўхори сўтаси	4.0	4.6	5.1	4.3	4.8	5.0	5.6	7.2	7.8

Натижалар кўрсатмоқдаки, FT-2 дурагай штамми, танлаб олинган шароитда ўстирилганда 30% гача оксил ҳосил қилади. Бунга нисбатан ота-она штаммлари анча кам оксил ҳосил қилиши кўриниб турибди.

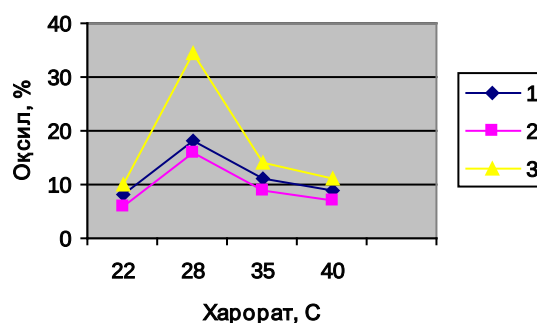
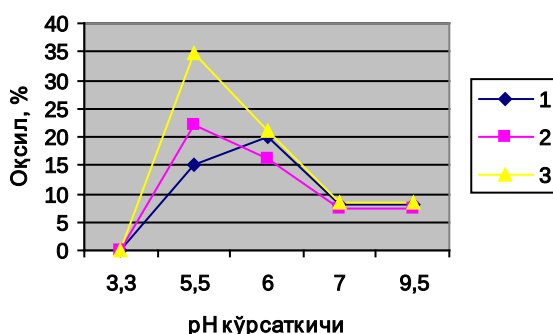
3.5. Ўрганилаётган штаммларнинг қаттиқ озуқа муҳитларида, ҳар хил ҳароратда ва pH муҳитида оксил ҳосил қилиш қобилятларини ўрганиш

Юқорида таъкидлаб ўтилганидек, ота-она ва дурагай штаммларни ҳар хил ҳароратда ва pH муҳитида оксил ҳосил қилиш қобилятини ўрганиш учун, биз уларни 22, 28, 35, 40⁰C ҳароратларда, муҳит pH кўрсаткичлари 3.0 дан 9.5 га тенг бўлган вазиятларда бўғдой кепагида 48, 84 ва 120 соат мобайнида ўстириб кўрдик. Ушбу тажрибалардан шу нарса маълум бўлдики, *Fusarium moniliforme*-112 замбуруғи учун муҳит pH 6.0, ҳарорат эса 28⁰C бўлиши қулай ҳисобланади ва шу шароитда 21% гача оксил ҳосил қилади. *Trichoderma harzianum* -10 штамми эса муҳит pH 5.5 бўлганда, 28⁰C ҳароратда 20.6% оксил ҳосил қилса, худди шу шароитда FT-2 штамми муҳит 34.5% оксил ҳосил қилади. Юқори ҳароратда 40⁰C шароитда ва муҳит pH 6.5-7.0 дан юқори бўлганда, *Fusarium moniliforme*-112 штамми 13.2%, *Trichoderma harzianum* -10 штамми 13.0%, дурагай FT-2 штамми эса 14.2% оксил ҳосил қилади.

Шундай қилиб, ота-она ва дурагай штаммларини ҳар хил ҳароратлар ва pH муҳитларида, бўғдой кепагида 48, 84 ва 120 соат давомида ўстириш натижасида уларнинг оксил ҳосил қилиш қобилятлари аниқланди. *Fusarium moniliforme*-112 замбуруғи 28⁰C да, pH 6.0 га тенг бўлганда 21% оксил ҳосил қилди. ва *Trichoderma harzianum* -10 штамми муҳит pH 5.5 бўлганда, ана шу ҳароратда 20.0%, худди шу шароитда дурагай FT-2 штамми 34.5% оксил ҳосил қилиши аниқланди (3-4 расмлар).

Fusarium ва *Trichoderma* туркумига мансуб микромицетлар, ем сифатида ишлатиладиган оксил препаратларининг янги турларини олиш учун манба

бўлиб ҳисобланади. Адабий манбаларда бу замбуруғлар сунъий суяқ озук муҳитларида 10-15 г/л биомасса ҳосил қилиши, бу биомасса 30% дан 50% гача оқсил ҳосил қилиши ҳақиқи маълумотлар мавжуд.



3-расм. Оқсил ҳосил бўлишига рН муҳитининг таъсири

4-расм. Оқсил ҳосил бўлишига ҳароратнинг таъсири

1- *Fusarium moniliforme*-112, 2-*Trichoderma harzianum*-10, 3 - FT-2 дурагай

Шу мақсадда, *Trichoderma harzianum*-10, *Fusarium moniliforme*-112 ва FT-2 дурагай замбуруғлари ҳосил қилган оқсил таркибдаги аминокислотларни ва оқсилларнинг ҳар хил эритмаларда эрийдиган миқдорини ўрганиш учун тажрибалар олиб бордик. Тажриба учн олинган микромицетларни суяқ озукаларда ўстирилганда биомассадаги оқсил миқдори сезиларли даражада ошганлиги кузатилди. Бунда, *Trichoderma harzianum*-10 -27.3% га, *Fusarium moniliforme*-112 - 29% га ва FT-2 дурагай штамми биомассасида 36.1% оқсил борлиги кузатилди (3.5.1-жадвал).

3.5.1-жадвал.

Фаол штаммларни суяқ озукда ўстириб олинган биомасса ва бу биомасса таркибидаги оқсиллар миқдори

Замбуруғ номи	Биомаса миқдори, г/л	Биомасса таркибидаги оқсиллар миқдори, %
<i>Fusarium moniliforme</i> -112	21.4	27.3
<i>Trichoderma harzianum</i> -10	23.2	29.0
FT-2 дурагай	27.8	36.1

Қуритилган биомассалар таркибидаги оқсиллар миқдорини ўрганганимизда шу нарса аён бўлдики, оқсил ҳосил бўлишига чўктирувчининг таркибий таъсири ҳам катта бўлар экан (3.5.2-жадвал).

3.5.2-жадвал

Фаол штаммларнинг ҳосил қилган биомассаси таркибидаги оқсилнинг эрувчанлик миқдори, %

Оқсил моддалар	Эриган оқсиллар миқдори, %		
	Fusarium moniliforme-112	Trichoderma harzianum-10	FT-2 дурагай
Сувда эрийдиган миқдори	21.2	23.8	26.4
Тузда эрийдиган миқдори	2.0	2.4	2.8
Спиртда эрийдиган миқдори	3.0	3.4	3.6
Ишқорда эрийдиган миқдори	7.2	7.7	7.5
Жами эриган моддалар	33.4	37.3	41.3

Энг кўп миқдордаги оқсил FT-2 дурагай штамм ҳосил қилган биомассани дистилланган сув билан аралашмасида 26.4%, бу вақтда биомассанинг ишқордаги аралашмасида 8.4% ва тузли эритмадаги аралашмасида 1.8-2.2% ни ташкил қилди.

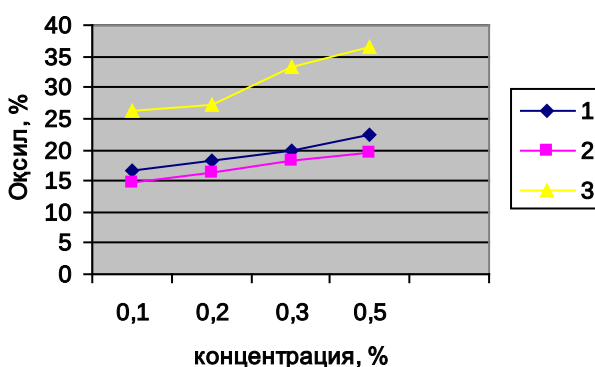
Олиб борилган изланишлар натижасида шу нарса аён бўлдики, қуритилган биомасса таркибида тузда ва спирта эрувчи оқсиллар миқдори, умумий эрийдиган оқсиллар миқдорига нисбатан жуда озчиликни, яъни 1.8% дан 3.6% гачани ташкил қилди.

Эрувчи оқсилларни, биомасса таркибидаги умумий оқсилларга нисбатан тенглаштирганимизда, энг кўп миқдордаги оқсил дурагай FT-2 штамми биомассасида бўлишлиги аниқланди.

3.6. Ўрганилаётган штаммларнинг қаттиқ озуқа мухитлари ўстирганда уларнинг оксил ҳосил қилишига турли хил азот манбаларининг таъсири

Ушбу тажрибамизда, ота-она ва дурагай штаммларга ҳар хил азот манбаларининг таъсирини ўргандик. Бунинг учун биз ҳар хил азотли минерал ва органик моддаларни танлаб олдик. 3.6.1-жадвалдан кўриниб турибдики, дурагай штаммларнинг оксил ҳосил қилиши учун 0.1% гача NaNO_3 тузи ва тузи қўшилган буғдой кепаги қулай ҳисобланади. 0.1% NaNO_3 тузи қўшилган буғдой кепагида 28°C ҳароратда 120 соат давомида *Fusarium moniliforme*-112 штамми 21.2%, *Trichoderma harzianum*-10 штамми 21.4%, FT-2 дурагай штамми эса 30.3% оксил ҳосил қилиши ўрганилди.

Худди шу шароитда 0.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи қўшилган буғдой кепагида *Fusarium moniliforme*-112 штамми 23.6%, *Trichoderma harzianum*-10 штамми 23.4%, FT-2 дурагай штамми эса 40.6% оксил ҳосил қилиши аниқланди (3.6.1-жадвал, 5-расм).



5-расм. Оксил ҳосил бўлишига $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузининг таъсири

1- *Fusarium moniliforme*-112, 2-*Trichoderma harzianum*-10, 3 - FT-2 дурагай

Шундай қилиб, дурагай штаммнинг оксил ҳосил қилиши учун 0.1% NaNO_3 туза ва 0.5% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи қўшилган буғдой кепаги озукаси pH 5.5 муҳит, 28°C ҳарорат қулай бўлиши исботлаб берилди

3.6.1-жадвал

Ота-она ва дурагай штаммлари буғдой кепагида ўстирилганда уларнинг
оқсил ҳосил қилишига ҳар хил азот манбаларининг таъсири, %

Азот манбаси	Концентрация, %	Ўстириш вақти, 120 соат		
		Fusarium moniliforme-112	Trichoderma harzianum-10	FT-2 дурагай
Назорат		13.2		
KNO ₃	0.1	20.2	18.8	26.4
	0.2	20.4	20.4	28.6
	0.3	21.5	20.4	29.4
	0.5	20.8	20.6	23.2
NaNO ₃	0.1	21.2	21.4	30.3
	0.2	20.0	20.1	25.3
	0.3	19.3	17.4	23.2
	0.5	18.4	17.6	20.4
NH ₄ NO ₃	0.1	16.0	15.4	19.0
	0.2	19.2	18.0	24.0
	0.3	19.0	19.0	22.4
	0.5	18.2	17.6	20.2
(NH ₄) ₂ HPO ₄	0.1	16.0	15.8	19.4
	0.2	19.4	17.5	21.8
	0.3	21.4	17.6	23.8
	0.5	20.2	16.3	21.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.1	18.4	15.2	30.3
	0.2	19.4	17.4	33.4
	0.3	20.6	20.5	34.0
	0.5	23.6	23.4	40.6
Мочевина	0.1	17.3	15.8	21.0
	0.2	21.0	20.0	24.5
	0.3	20.4	20.6	28.4
	0.5	20.0	19.2	22.8
Пептон	0.1	17.2	16.5	26.7
	0.2	19.8	17.0	22.0
	0.3	19.5	19.4	29.0
	0.5	18.5	19.0	26.0

Юқорида натижалари баён этилган тажрибалардан ташқари ота-она ва дурагай штаммларини буғдой кепагида ўстирилиб, ажратиб олинган биомасса таркибидаги умумий оксилнинг ва аминокислотларнинг миқдори ўрганилди. Биомасса оксиди таркибидаги аминокислотлар миқдорини ўрганганимизда, *Fusarium moniliforme*-112 штаммида 100 грам умумий оксилда 40.6 г аминокислота, *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғидан олинган 100 г оксилда эса 38.5 г аминокислота борлиги аниқланди, шуларнинг алмашинмайдиганлари 100 г оксилда 31.5 г га тўғри келиши ўрганилди (3.6.2-жадвал).

3.6.2-жадвал

Буғдой кепагида ўстирилган штаммлар биомассаси оксиди таркибидаги аминокислотлар миқдори, 100 г/г

Аминокислоталар	ФАО нормаси	<i>Fusarium moniliforme</i> -112		<i>Trichoderma harzianum</i> -10		ФТ-2 дурагай	
Лизин	5.5	6.4	6.2	-	-	3.7	6.7
Гистидин		2.6	-	1.4	-	-	-
Аргинин		-	-	0.6	-	3.4	-
Аспарагин кислотаси		3.8	-	0.8	-	3.4	-
Треонин	4.0	4.6	4.6	3.7	3.7	1.4	1.4
Серин		-	-	1.4	-	0.8	-
Глутамин кислотаси	2.2	2.2	-	-	-	1.7	-
Пролин		3.2	-	0.7	-	-	-
Глицин		3.2	-	-	-	2.0	-
Аланин		1.8	-	1.0	-	3.2	-
Цистин							
Валин	5.0	-	-	3.7	3.7	2.3	2.3
Метионин	3.5	5.4	5.4	2.7	2.7	3.8	3.8
Изолейцин	4.0	4.4	4.4	4.2	4.2	3.5	3.5
Лейцин	7.0	5.8	5.8	5.8	5.8	5.4	5.4
Тирозин	6.0	1.7	1.7	5.2	5.2	4.3	4.3
Фенилаланин	-	4.4	4.4	5.2	5.2	4.8	4.8
Аминокислоталар йиғиндиси	36.0	40.6	33.7	38.5	31.5	46.1	32.1

Шундан хулоса чиқариш мумкинки, дурагай замбуруғининг аминокислота ҳосил қилиши ота-она штаммларидан анча юқори экан. Натижада дурагай штаммининг ўсиши учун энг яхши озуқа танлаб олинди ва қулай ўсиш шароитлари аниқланиб, оксилга бой бўлган биомасса олиш имконияти яратилди.

Х О Т И М А

Кўпчилик изланувчилар фикрича, оддий озуқаларда оксил ҳосил бўлиши учун кўшимча азотли органик моддалар ишлатилиши талаб этилади. Шунинг учун ҳам озуқага таркибида азотли органик моддалар бўлган хар хил ўсимлик қолдиқларини, яъни маккажўхори сўтаси, ачитқи экстрактлари ва бошоқли экинлар чиқиндиларини кўшиш мақсадга мувофиқдир.

Бизнинг тадқиқотлар натижасида фаол штаммларни майдаланган бошоқли экинлар сомони, маккажўхори сўтаси, шоли қипиқларидан тайёрланган озуқага 0.1% гача маккажўхори экстракти кўшиб ўстирилганда, озуқа муҳити pH кўрсаткичи кислотали томонга ўзгарганлиги кўрсатиб берилиди. Табиийки, маккажўхори экстракти 0.8% дан ортиқ кўшилганда, экстракт таркибидаги баъзи бир моддалар оксиллар парчаланишини вужудга келтирсада, микромицетларнинг ўсишига салбий таъсир қилмайди.

Бундан ташқари биз *Trichoderma harzianum*-22 ва *Fusarium solani* var.*agrillaceum*-9 замбуруғларини азотли тузлар кўшилган сут зардобидида ўстириб, уларнинг биомасса ва протеин ҳосил қилишини ўргандик. Тажрибалар натижасида замбуруғларнинг биомасса ҳосил қилишига $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи энг муҳим азот манбаи бўлиб хизмат қилишини аниқладик. Энг кўп миқдордаги биомасса ва протеин ҳосил бўлиши, сут зардобига 12 г/л миқдорида $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тузи кўшиб, замбуруғларни ўстирганимизда кузатилди. Бунда *Trichoderma harzianum*-22 ва *Fusarium solani* var.*agrillaceum*-9 замбуруғларида 34.2 ва 31.2 г/л биомасса ҳосил бўлди, оксил эса *Trichoderma harzianum*-22 штаммида 45.2%, *Fusarium solani* var.*agrillaceum*-9 штаммида эса 39.0% ни ташкил этганлигини кузатдик.

Кўшилган протопластларнинг хужайра қобиғи тиклангандан кейин уларни баъзи компонентлар жиҳатидан камбағал бўлган озуқа муҳитига эдик. Бундай шароитда протопластларнинг кўпчилиги ота-она штаммларига ажралиб кетишини кузатдик. Ушбу фактдан баъзи бир протопластлар охиригача кўшилмаган экан деган хулосага келиш мумкин. Бу каби штаммларнинг кўпчилигида оксил ҳосил қилиш қобилияти сут бўлди. Лекин

уларнинг баъзилари 3-4 қайта экилгандан кейин ҳам ўзаро қўшилиш қобилятини сақлаб қолди. Бошқача айтганда, улар тўлиқ қўшилган протопластлар ҳисобланиб, уларнинг оқсил ҳосил қилиш қобиляти ўта юқори бўлди. Янги олинган дурагай штаммлар бир қанча белгилари бўйича ота-она штаммлардан тубдан фар қилди: морфологик белгилари, Чапек озукасида ўсиши, ранги, колониясининг тузилиши ва бошқа жиҳатлари бўйича. Айниқса ва энг муҳими, дурагай штаммларнинг оқсил ҳосил қилиш қобиляти ота-она штаммларга нисбатан 2-3 марта юқори бўлди. Шундай қилиб, ўтказган тажрибаларимиз натижасида, *Fusarium moniliforme*-112 ва *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғларидан протопластлар олдик ва уларни қўшиш натижасида дурагай штаммлар олишга эришдик. Олинган дурагай штаммлар ота-она белгиларига тамомила ўхшаш белгиларни ҳам намоён этди. Дурагай штамм *Trichoderma harzianum*-10 дан яшилроқ рангни олган бўлса, *Fusarium moniliforme*-112 дан эса у колонияларининг яхши ривожланиб, пахтасимон кўринишни мерос қилиб олганлиги аниқланди.

ХУЛОСА

1. *Fusarium moniliforme*-112 ҳамда *Trichoderma harzianum*-10 замбуруғ штаммлари асосида хужайра биотехнологияси усули асосида юқори даражада оқсил ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлган FT-2 мутант штамми яратилди;
2. *Streptomyces afganiensis*-7 культурасидан олинган эритувчи фермент целлоафганиндан 20мг/мл (pH-7.0) миқдорида олиб протопластлар олишда фойдаланиш самарали эканлиги исботлаб берилди;
3. Тажрибаларнинг кўрсатишича *Fusarium moniliforme*-112 штамми учун 0.7 М NaCl ва *Trichoderma harzianum*-10- штамми замбуруғи учун эса 0.4 М NaCl эритмаси қулай стабилизатор эканлиги аниқланди;
4. FT-2 венфун штаммнинг юқори оқсил ҳосил қилиши учун 0.1% NaNO₃ ҳамда 0.5% (NH₄)₂SO₄ тузи қўшилган буғдой кепаги озукиси (pH-5.5) муҳити, 28⁰С ҳарорат қулай бўлиши аниқланди.
5. Худди шу шароитда *Fusarium moniliforme*-112 штамми 23.6%, *Trichoderma harzianum*-10 штамми 23.4%, FT-2 дурагай штамми эса 40.6% оқсил ҳосил қилиши кўрсатиб берилди.

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР

1. Артамонов В.И. Биотехнология агропромышленному комплексу. Москва. Наука. 1989, 165с.
2. Безбородов А.М. Биотехнология продуктов микробного синтеза. М., «Агропромиздат» 1991. 240 с.
3. Биотехнология: Учеб. пособие для вузов. В 8 кн. /Под ред. Н.С.Егорова., В.Д.Самуилова. Кн. 6: Микробиологическое производства биологически активных веществ и препаратов/ Быков В.А., Крылов И.А., Манаков М.Н. и др. - М.: Высш. шк., 1987. - 143 с.
4. Бакай С.М. Биотехнология обогащения кормов мициальным белком. Киев. Урожай 1987.
5. Быков В.А. и др. Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов. – М. Высшая школа, 1987.
6. Бабаев А.А. – Биотехнология. М., Наука, 1984.
7. Беккер М.Е. Введение в биотехнологию. М., Пищевая промышленность, 1978. с.297.
8. Бич Г., Бест Д., Брайерли К и др. Биотехнология, Принципам приложения. М., Мир, 1988.
9. Варфоломеев С.Д., Калюжный С.В. Биотехнология. Кинетическая основы микробиологических процессов. М., Высшая школа, 1990.
10. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология. М., Изд-во МГУ, 1989.
11. Гаврилова Н.Н. Липиды микроорганизмов для кормовых целей. М., ВНИИСЭНТИ, 1985.
12. Глележа А.А. и др. Микробные ферменты в народном хозяйства – Вильнюс: Мокслас, 1985.
13. Грачева И.М., Гаврилова Н.Н., Иванова Л.А. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и жиров. - М.: Пищевая промышленность, 1980. 448 с.
14. Грачева И.М. Технология ферментных препаратов. М., 1975.
15. Давранов Қ. Микроблар дунёси. Тошкент: ТошДАУ, 2001. 185 б.

16. Давранов Қ., Хўжамшукуров Н. Умумий ва техник микробиология. Тошкент, ТошДАУ, 2004. 279 б.
17. Еликов П.П. Основы биотехнологии. С.п.б. Иф. «Наука», 1995.
18. Калунянц К.А., Голгер Л.И. Микробные ферментные препараты. М., 1979.
19. Калунянц К.А., Голгер Л.И. Ферменты медицинского назначения /Под ред. А.А. Терлишна./ Л. 1975.
20. Кантере В.М. Теоретические основы технологии микробиологических производств. М., «Агропромиздат», 1990.
21. Красота В.Ф., Завертяев Б.П. и др. Биотехнология в животноводстве. М., Колос, 1994.
22. Кретович В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. М.: Наука, 1987.
23. Ленинджер А. Биохимия. Мир. 1974.
24. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток / Пер. с англ. М., 1978.
25. Рубан Е.Л. Микробные липиды и липазы. М., 1977.
26. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов. М., Россельхозакадемия, 2000.
27. Тутов И.К., Ситьков В.И. Основы биотехнологии ветеринарных препаратов – Ставрополь, 1997.
28. Шлегель Г. Микробиология. Мир, 1987.
29. Соловьёв, А.В. Роль семенной инфекции клевера в этиологии корневой гнили / А. В. Соловьёв, Г. С. Марьин // Вестник Казанского ГАУ (ежеквартальный научный журнал). – Казань, 2008. - № 3 (9). – С. 88-91.
30. Соловьёв, А. В. Особенности технологии получения триходермина в условиях малотоннажного производства //Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства: Мосоловские чтения: Материалы международной научно-практической конференции. Вып. VI. – Йошкар-Ола: Мар. гос. ун-т, 2004. – С. 111-113.

31. Пелевина, Н.А. Микотоксикозы сельскохозяйственных животных. Учебно-методическое пособие для студентов факультета ветеринарной медицины очного и заочного отделения / И.М. Донник, Е.Н. Шилова, О.С. Бодрова. – Екатеринбург.: ООО «Ира УТК», 2007. – 10 с.
32. Пелевина, Н.А. Контроль аминокислотного состава кормов и комбикормового сырья для птицеводства / И.М. Донник, О.С. Бодрова // Аграрный вестник Урала. – № 2. – 2008. – С.71-72.
33. Пелевина, Н.А. Анализ дисбиотических нарушений в кишечнике птицы промышленного стада / И.М. Донник, И.Ю. Вершинина // Аграрный вестник Урала. – № 3. – 2008. – С.35-39.
34. Пелевина, Н.А. Микробиологический контроль кормов и комбикормового сырья / И.М. Донник // Аграрный вестник Урала. – № 5. – 2008. – С.53-55.
35. Безбородова, Н.А. Разработка регламента проведения оценки качества сырья и кормов для с.х. животных и птицы. Научные рекомендации / И.М. Донник, И.А. Шкуратова, И.Ю. Вершинина. – Екатеринбург.: ООО «Ира УТК», 2008. – 182 с.
36. Безбородова, Н.А. Санитарно-микологический контроль качества кормов и комбикормового сырья / И.М. Донник, С.В. Садчикова // Ветеринария Кубани. – № 2. – 2008. – С.12-13.
37. Безбородова, Н.А. Влияние микотоксинов на репродуктивную функцию высокопродуктивных коров / М.В. Ряпосова, О.В. Соколова // Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии. – СПб. – 2008. – С.229-232.
38. 9. Безбородова, Н.А. Санитарно-микологический контроль сырья и кормов / И.М. Донник, О.С. Бодрова // Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии. – СПб. – 2008. – С.288-289.
39. 10. Безбородова, Н.А. Лабораторный контроль микотоксинов в кормах и комбикормовом сырье / Н.А. Безбородова // Современные проблемы

- диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц. – Екатеринбург. – 2008. – С.30-33.
40. Claus H. Laccases: structure, reactions, distribution// *Micron*. 2004. V. 35. P. 93–96.
41. Baldrian P. Purification and characterization of laccase from the white-rot fungus *Daedalea quercina* and decolorization of synthetic dyes by the enzyme // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2005. V. 63. P. 560–563.
42. Duran N., Esposito E. Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment // *Appl. Cat. B: Environ.* 2000. V. 28. P. 83–99.
43. Holker U., Dohse G., Hofer M. Extracellular laccases in ascomycetes *Trichoderma atroviride* and *Trichoderma harzianum* // *Folia Microbiol.* 2002. V. 47. P. 423–427.
44. Kiiskinen L.-L., Ratto M., Kruus K. Screening for novel laccase-producing microbes // *J. Appl. Microbiol.* 2004. V. 97. P. 640–646.
45. Lomascolo A., Record E., Heproel I. et al. Overproduction of laccase by a monocaryotic strain of *Pycnoporus cinnabarinus* using ethanol as inducer // *J. Appl. Microbiol.* 2003. V. 94. P. 618–624.
46. Методы экспериментальной микологии / Под ред. В.И. Билай. Киев: Наукова думка, 1982. 550 с.
47. Досон Р, Элиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 464 с.
48. Assavanig A., Amornikittiecharoen B., Ekpaisal N. et al. Isolation, characterization and function of laccase from *Trichoderma* // *Appl. Microbiol and Biotechnol.* 1992. V. 38. № 2. P. 198–202.
49. Бабицкая В.Г. Грибы – эффективные деструкторы лигноцеллюлозных субстратов: их морфологическая и физиолого-биохимическая характеристика // *Микология и фитопатология*. 1993. Т. 27. № 5. С. 38–44.

50. Гукасян Г.С. Влияние лигнина на рост и тирозиназную активность грибов, представителей рода *Aspergillus* // Биохимия. 1999. Т. 64. Вып. 2. С. 274– 278.
51. Леонтьевский Л.А, Позднякова Н.Н., Мясоедова Н.М., Головлева Л.А. Изучение физико-химических и каталитических свойств оксидазы-1 из гриба *Panus tigrinus* и лакказы из гриба *Coriolus versicolor* // Биохимия. 1996. Т. 61. № 10. С. 1785–1792.
52. Асраров У. Белково-витаминная паста из хлореллы при откорме бычков на рационах из хлопчатниковых кормов // Культивирование водорослей и высших водных растений в Узбекистане. -Ташкент: Фан, 1972. -С.58-62.
53. Безлозерский А.И., Проскуряков Н.И. Практическое руководство по биохимии растений. -М.: Наука, 1951. - С.38-110.
54. Вознеснский В.А., Заленский О.В., Семихатова О.А. Методы определения фотосинтеза и дыхания растений. -М.-Л.: 1965. С.350
55. Ермаков А.И. и др. Методы биохимического исследования растений. -Л.: Агропромиздат. 1987. -430 с.
56. Методы общей бактериологии. Т.1. -М.: Мир. 1983. -536 с.
57. Методы общей бактериологии. Т.2. -М.: Мир. 1984. -472 с.
58. Методы общей бактериологии. Т.3.-М.: Мир. 1984.-264 с.
59. Плешков Л.К. Биохимические методы растений. -М.: Колос. 1971. 93 с.
60. Деграция природных полимеров мицелиальными грибами-продуцентами биологически активных веществ./ В.Г. Бабицкая, В.В. Щерба. // Прикл. Биохимия и микробиология. -1991. -27, №5. - с.687-694.
61. Микробиология, том 64, №2, 1995, с.197-200, Л.А. Головлева, З.И. Финкельштейн, Б.П. Баскунов.
62. Роговин З.А. Химия целлюлозы.- М.: Химия, 1972.- 519 с.
63. Тарчевский И.А., Марченко Г.Н. Биосинтез и структура целлюлозы.- М.: Наука, 1985.- 279 с.
64. Эриньш П.П. Строение и свойства древесины как лигнокомпонентной целлюлозной системы// Химия древесины.- 1977.- №.- С. 8-25.
65. Билай Т. И. Биотехнологические основы трансформации целлюлозы в белково-ферментные препараты// Биохимия животных и человека: Респ. Мевжвед. сб. научных трудов/ АН УССР.- Киев, 1988. Вып. 12.- С. 42-54.

66. Огарков В. И., Киселев О. М., Быков В. А. Биотехнологические направления использования растительного сырья// Биотехнология.- 1985.- №3.- С. 1-15.
67. Агабекян Э.Л. Влияние дисперсности соломы на целлюлолитическую активность гриба *Asp. terreus* 17 p // Микробиол. пром. - 1982.- №3.- С. 10-11.
68. Градова Н. Б., Касим-заде И. Э., Винаров А. Ю. Сравнительная оценка эффективности способов биоконверсии гребней винограда// Биотехнология.- 1991.- №1.- С. 85-88.
69. Влияние механохимической обработки соломы на качество получаемых кормовых гранул/ Ю.Ю.Каткевич, А.Соммер, З.Чернякова и др. // Химия древесины.- 1990.- №5.- С.72-78.
70. Микология. Э.Мюллер, В.Лефлер: Пер.с нем. - М.: Мир, 1995
71. Плазмиды биodeградации нафталина в ризосферных бактериях рода *Pseudomonas* / В.В.Кочетков, В.В.Балашина, Е.А.Мордухова// Микробиология том 66, №2 1997 стр.211-216, март- апрель.
72. Методы селекции продуцентов антибиотиков и ферментов/ Р.А.Жукова, А.Д. Коммунарская, М.И. Прошина и др. - Л.: Медицина, 1978.- 160 с.
73. Выделение из природных биоценозов микроорганизмов целлюлозодеструкторов, резистентных к биоцидным веществам/ Козлов Г.В., Марьяновская Ю.В., Калей Я.А., Соколов В.Н., Гарабаджиу А.В. // Тез. докл. Научн.-техн. конф-ции. СПбГТИ (ТУ) им. М.М.Сычева-СПб.:Изд.СПбГТИ(ТУ), 1997, с.126.
74. Выделение и характеристика микроорганизмов- деструкторов полициклических ароматических углеводов / Пунтус И.Ф., Филонов А.Е., Кошелева И.А., Гаязов Р.Р., Карпов А.В., Боронин А.М.// Микробиология Т.66, №2, 1997 с.269-272.
75. Fungal oxidotio n makes large waste molecules manageable//Bioprocess. Technol.- 1991.-13, №4.-p. 7.

76. Фёршт Э. Структура и механизм действия ферментов.- М.: Мир., 1980.- с. 373-388
77. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии.- М., 1989
78. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты: пер.англ.- М.: Мир, 1982.- т.1.- с. 370-375
79. Асатиани В.С. Биохимическая фотометрия.- М.: Изд. АН СССР, 1957.- с.248-253
80. Волчатова И.В., Беловежец Л.А., Медведева С.А. Микробиологическое и биохимическое исследование лигнокомпоста в процессе созревания // Микробиология. - 2002. - Т. 71. - № 4. – С. 545-549.
81. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А. Стимуляция развития растений культуральными жидкостями микроорганизмов // Владимирский земледелец. – 2004. - № 3-4. – С. 27.
82. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А. Эффективность лигнокомпоста в зависимости от его агрохимических и биологических показателей при выращивании зерновых культур // Агрохимия. – 2005. - № 1. – С. 38-43.
83. Волчатова И.В., Медведева С.А., Бутырин М.В., Беловежец Л.А. Продуктивность агроценозов при использовании продуктов биоконверсии гидролизного лигнина // Агрохимия. – 2005. - № 5. – С. 55-58.
84. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А. Ростстимулирующая активность фракций компоста на основе гидролизного лигнина // Агрохимия. – 2005. - № 7. – С. 29-35.
85. Волчатова И.В., Медведева С.А., Беловежец Л.А., Коломиец Э.И. Дрожжеподобные грибы – источник получения биологически активных добавок // Успехи медицинской микологии. - Т. 5.- М.: Национальная академия микологии. - 2005. – С. 185-186.
86. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А. Биологическая активность культуральных фильтратов лигнинолитических микроорганизмов // Земледелие. – 2006. - № 2. – С. 14-16.

87. Д.Г. Звягинцев, А.А.Шаповалов, Ю.Г.Пуцыкин, А.Л.Степанов, Л.З.Лысак, М.Л.Буланова Устойчивость гуминовых кислот к микробной деструкции.. Вестн.МГУ Сер.17, Почвоведение, №2, 2004, 47-52с.
88. Д.С. Орлов Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации.-М.: Изд-во МГУ, 1991.-324 с.
89. Т.А. Кухаренко О молекулярной структуре гуминовых кислот В сб. Гуминовые вещества в биосфере, Москва, Наука, 1993, 31с.
90. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. – М.: Наука, 1988. – 127 с.
91. Аристовская Т.В. Микробиология подзолистых почв – М.: Наука, 1975. – 188 с.
92. Байрамов Л.Э. Азотное питание и продуктивность ячменя при использовании биопрепаратов: Автореф. дис... канд. биол. наук. – М.: ВИУА, 2000. – 25 с.
93. Бейли Дж. Фитоалексины. – Киев: Наукова Думка, 1982. – 320 с.
94. Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и ормопроизводстве)- М.:2005.-154 с.
95. Боронин А.М., Кочетков В.В. Биологические препараты на основе псевдомонад. – Агро-XXI, 2000. №3. – С. 3-5.
96. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
97. Бэртон У.Г. Физиология созревания и хранения продовольственных культур. / Пер. с англ. И.М. Спичкина под ред. Н.В. Обручевой – М.: Агропромиздат, 1985. – 359 с.
98. Егоров Н.С., Ландау Н.С. Биосинтез биологически активных соединений смешанными культурами микроорганизмов//Прикладная биохимия и микробиология. 1989. – Т. 18. №6. – С. 78-81.
99. Методы общей бактериологии: В3т.//Под ред. Ф.Герхарта. – М.: Мир, 1984.
100. Методы почвенной микробиологии и биохимии//Под ред.

Д.Г.Звягинцева. – М.: Изд-во МГУ, 1991.

101. Практикум по микробиологии//Под ред. А.И.Нетрусова. – М.: Изд-ва Академа, 2005.

102. Руководство к практическим занятиям по микробиологии//Под ред. Н.С.Егорова. – М.: Изд-во МГУ, 1995.

