

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ  
ОЛИЙ ВА ЎРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

**МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ  
ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ  
БИОЛОГИЯ ТУПРОҚШУНОСЛИК ФАКУЛЬТЕТИ**

**Соҳибназарова Хонсулув Абдувоҳидовна**

**БУХОРО ВИЛОЯТИ ЧЎЛ ТУПРОҚЛАРИДАГИ *VACILLUS*  
АВЛОДИГА МАНСУБ ТЕРМОФИЛ БАКТЕРИЯЛАРНИ  
АЖРАТИБ ОЛИШ ВА ЎРГАНИШ**

# **БИТИРУВ МАЛАКАВИЙ ИШИ**

**Илмий раҳбарлар:  
биология фанлари номзоди  
доцент Т.Х.Расулова  
катта ўқитувчи Р.Н.Жўраева**

**Тошкент-2013**

## МУНДАРИЖА

|                                                                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>КИРИШ.....</b>                                                                                                   | <b>4</b>  |
| <b>1-БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРХИ</b>                                                                                      |           |
| 1.1. Термофил бактериялар ва уларнинг адаптация жараёнлари.....                                                     | 6         |
| 1.2. Термофил бактериялар ва уларнинг илмий амалий аҳамияти.....                                                    | 11        |
| <b>2-БОБ. МАТЕРИАЛЛАР ВА ИШ УСЛУБЛАРИ.....</b>                                                                      | <b>13</b> |
| <b>3-БОБ. ТАДҚИҚОТ НАТИЖАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ТАХЛИЛИ.</b>                                                              |           |
| 3.1. Чўл тупроғи ва чўл усимликлари ризосферасидан термофил бактерияларни ажратиб олиш .....                        | 18        |
| 3.2. Термофил бактерияларнинг морфологик культурал хусусиятларини ўрганиш, уларнинг таксономик ўрнини аниқлаш ..... | 20        |
| 3.3. Термофил бактерияларнинг ўсиш тезлиги ва ривожланиши.....                                                      | 25        |
| 3.4. Фаол термофил бактерия штаммларининг антагонистик хусусияти .....                                              | 27        |
| <b>ХУЛОСАЛАР.....</b>                                                                                               | <b>29</b> |
| <b>Фойдаланилган адабиётлар руйхати.....</b>                                                                        | <b>30</b> |

## Қисқартма сўзлар

1. ГПС –гўш пептон суюқлиги
2. ГПЖ– гўш пептон желатини
3. ГПҚ –гўш пептон қайнатмаси
4. ПА –пептон агар
5. ГПА –гўш пептон агари
6. КҚ –картошка қайнатмаси
7. *F. oxysporum*– *Fusarium oxysporum*
8. «+» – белгиларни мавжудлиги
9. «-» –белгиларни йўқлиги

## КИРИШ

### Мавзунинг долзарблиги

Мамлакатимиз ривожланиши юқори босқичга ўтган бир даврда чўл ва чўллашган тупроқларнинг унумдорлиги ошириш ва микрофлорасини экологик - биологик балансини сақлаш муаммолари ҳозирги кунда ўз ечимини кутаётган энг муҳим долзарб масалалардан бири бўлиб келмоқда.

Чўл зонаси ўзига хос табиий комплекс бўлиб, Ер шарининг мўътадил, субтропик ва тропик иқлим минтақаларидаги ўта қурғоқчил континентал иқлимли ҳудудларда вужудга келган. Тупроқ ва тикланмайдигн ресурслардан бири бўлиб жуда катта аҳамиятга эга.

Ҳозирги кунгача 2 млрд.дан ортиқ унумдор тупроқли ерлар яроқсиз ҳолатга келган. Ҳар йили сайёраимиздаги қишлоқ хўжалиги учун яроқли ерлар майдони шўр босиши, емирилиш натижасида 5-7 млн. гектарга камаймоқда.

Иқлимий маълумотларга кўра, ҳозир чўл ва чалачўллар Ер шарида 4,7 млрд га ни эгаллайди. Қуруқликнинг қарийб 1/3 қисмини ишғол этган. Ўзбекистон республикаси ҳудудининг 70 фоизи чўллардан иборат бўлса, бунда Бухоро вилоятининг 88,6 фоиз (35,7 минг км<sup>2</sup>) майдони чўлларга тўғри келади. Мавжуд ҳолат чўлларга бўлган муносабатнинг яхшиланишини ва чўл минтақасида микроорганизмларни ўрганиш муҳимлигини тақозо этади. Чўл ҳудудларининг тупроқ микрофлораси ўз хилма-хиллиги билан ажралиб туради. Олимларнинг кўп йиллик тадқиқотлари шуни кўрсатадики чўл зонасидаги микроорганизмлар юқори термофиллиги ва галофиллиги билан характерланади.

Ҳозирги даврга келиб чўл зонасидаги шўрланган тупроқларнинг микроорганизмлари тўла ўрганилмаган. Шу туфайли ушбу малакавий битирув ишимни мақсади қуйидагидан идорат бўлди.

## **ИШНИНГ МАҚСАДИ:**

Бухоро вилояти тупроқларидаги *Bacillus* авлодига мансуб термофил бактерияларни ажратиб олиш ва ўрганиш.

## **Тадқиқот вазифалари:**

- \* Чўл тупроқлари ва турли чўл ўсимликлари ризосферасидан термофил бактерияларни ажратиб олиш.
- \* Танлаб олинган фаол штаммларнинг морфолого-культурал хусусиятларини урганиш ва уларнинг қайси авлодга мансуб эканлигини аниклаш.
- \* Термофил бактерияларни ўсиши учун зарур озуқа муҳитини танлаш
- \* Танлаб олинган термофил бактерияларнинг антагонистик хусусиятини ўрганиш.

Ишнинг объекти сифатида *Bacillus* авлодига мансуб термофил бактериялардан фойдаланилди.

Битирув малакавий иши кириш, адабиётлар шарҳи (1-боб), материаллар ва иш услублари (2-боб), тадқиқот натижалари ва уларнинг таҳлили (3-боб) хулосалар ва адабиётлар рўйхатидан иборат бўлиб, асосий мазмуни 34 саҳифани ташкил қилади. Ишни ёритишда 5 жадвал ва 6 расмдан фойдаланилди.

## **I – БОБ. АДАБИЁТЛАР ШАРХИ**

### **1.1 Термофил бактериялар ва уларнинг адаптация жараёнлари**

Микроорганизмлар орасида биологик фаолигига эга бўлган термофил бактериялари табиатда кенг тарқалган, бу изланувчиларда, шубҳасиз, катта қизиқиш ўйғотади.

Маълумки, микроорганизмларга ташқи муҳит туғдирадиган таъсир доираси кенг, шулардан бири юқори ҳароратдир. Юқори ҳароратларда яшай оладиган микроорганизмлар “ термофил” деб номланади. Адабиёт манбаларида берилишича, термофил бактериялар 4 та асосий гуруҳга бўлинади [ 2 ].

- термотолерант турлар
- факультатив термофиллар
- облигат термофиллар
- экстремал термофиллар

Термофил бактерияларнинг юқори ҳароратларда фаол яшай олишини таъминловчи механизмларни аниқлаш йўлидаги тадқиқотчиларда катта қизиқиш ўйғотмоқда. Бу йўналишдаги изланиш хулосаларига кўра, юқори ҳароратда ўсувчи микроорганизмлар термоадаптациянинг хилма-хил механизмларини намоён этади. Термофилларда оксиллар, айниқса, ферментлар, хужайра мембранасини термостабиллигини таъминловчи липидлар, ҳамда ёғ кислоталари воситасида кирувчи турли молекуляр механизмлар учрайди.

Аммо, айрим тадқиқотчиларнинг фикрича, кўпгина термофил бактериялари мезофил бактериялар турига киради ва фақат юқори ҳароратда ривожлана олиш хусусияти билан фарқ қилади[ 19 ].

Бир қанча илмий нашрларда кўрсатилишича термофил бактерияларнибу асосий яшаш жойлари иссиқ сув манбалари уларни

термофилларни ажратиб олиш мумкин. Бу Камчатка иссиқ манбалари, Марказий Осиё, Ҳиндистон, Япония, Жанубий Америка, Европа, Исландия табиий ўчоғи ҳисоблаган [ 27 ]; [ 36 ]; [ 26 ].

Кўпгина авторлар томонида, иссиқ ўлкаларда термофил микроорганизмлар ажратиб олинган ва уларни турли хил физиологик гуруҳлари аэроб ва анаэроб шароитда ўсиши аниқланган [ 3 ]; [ 40 ]; [ 39 ].

Larsen Lise авторлар билан (1997) Исландия иссиқ манбаларида экстремофил термофил бактериялар ажратиб олишди. Олиб борилган изланишлар натижасида аниқланишича ажратиб олинган термофил бактериялар – таёқчасимон, ҳаракатчан, граммусбат, спора ҳосил қилувчи, ўсиш ҳарорати ўртача 55-75<sup>0</sup>С. Молекуляр – генетик (16S рРНК) анализи асосида штамм янги турига *Thermoanaerobacter mathranii* sp. nov.га киритилди.

Фучжоу шаҳрида жойлашган иссиқ булоғдан Li Cong-ying (2003), саккизта граммусбат бацилла ажратиб олди. Улардан еттита штамм автор томонидан *Bacillus stearothermophilus* турига киритилди. Максимал ўсиш ҳарорати 50-60<sup>0</sup>С ташкил этади.

Япония иссиқ иссиқ сув манбаларида термофил автотроф сульфатредукция қилувчи бактериялар мавжудлигини Koji Mori (2003) хабар қилади. Уларнинг филогенетик ва фенотип хусусиятлари ўрганилди, ажратиб олинган культура янги тур *Thermodesulfobium narugense* га киритилди.

Микроорганизмлар орасида метан бижғитувчи термофил метан бактериялари борлиги кўпчиликда қизиқиш ўйғотади. Zinder авторлар билан (1979), илк бор термофил метаносарцина тоза культурасини штамм (ТМ – 1 ) ажратиб олди ва характерлаб берди. Авторлар томонидан метаносарциналарни таксономик белгилари ўрганилди. Ажратиб олинган штамм ТМ–1 кейинчалик *Methanosarcina thermophila* турига киритилди [ 38 ].

Фаол балчиғдан (ботқоқ газы) термофил метаносарцина ажратиб олинди ва характерланди. TS1 ва TS2 штаммлари 37- 60°C, (оптимум 50-57°C) ҳароратда ва pH 5,8 - 8,2 ўсиши аниқланган [ 17 ].

Бошқа термофил бактериялардан 41-60°C яшаб темирни оксидловчи бактериялар ҳақида ёзилган. Нашр этилган илмий ишларда иссиқ чучук булоқларида [ 16 ], денгиз суви тубидан [ 34 ], кенг тарқалган темир оксидловчи микроорганизмлар кўрсатилган. Аммо, термофил темир редукторлар функцияси микроблар туркумида деярли ўрганилмаган [ 20 ].

Ғарбий Сибир, Қозоғистон ва Хитойда юқори ҳароратли нефт пластинкаларидан углевод оксидловчи аэроб бактериялари топилганлиги ҳақида Назин ва бошқ. (2000) билдиради. Авторлар томонидан етти аэроб спора ҳосил қилувчи термофил микроорганизмлари ажратиб олинди, микробиологик ва молекуляр-генетик усуллари билан хусусиятлари ўрганилди.

Яна шуни таъкидлаш керакки, силосда [ 6 ], гўнг [ 33 ], нефт [ 12 ], сув [ 29 ], тупроқда ва бошқа жойларда термотолерант ва факультатив термофил бактериялари кенг тарқалган. Бу микроорганизмларнинг топилиши ҳар доим ҳам иссиқ ҳудудларга боғлиқ эмас. Аммо, айниқса доимий ёки узок вақт юқори ҳарорат таъсири бор жойларда термофил бактериялари интенсив ривожланиши кузатилган.

Маълум термофил бактерия турлари орасидан силос ва гўнгдан турли хил бактерия гуруҳлари *Bacillus*, *Alicyclobacillus*, *Paenibacillus*, *Halobacillus*, *Brevibacillus*, *Aneurinibacillus* ажратилган (Ash et al., 1994; Rainey et al., 1994;). Силос ва гўнг намунасида, 30-61°C диапазонда, шунингдек, максимал тезлик билан 55°C ўсувчи термотолерант ва облигат термофил тоза культуралари ажратиб олинди. Ўстириш давомида юқори ҳароратда морфологияси, хужайра таркибидаги фосфолипид ва ёғ кислотада сезиларли даражада ўзгариши кузатилди [ 6 ].

Шуни таъкидлаб ўтиш керакки, илгари маълум бўлмаган экотопларда йилдан йилга янги термофил бактерия гуруҳлари ҳақида янгиликлар миқдори кўпаймоқда.

Тупроқ хилма хил термофил микроорганизмларини ажратиб олишда анъанавий бой манба ҳисобланади, хлорид ва карбонат шўрланишида, айниқса жанубий кенгликларида термоалкалофил бактериялари кенг тарқаган [ 25 ] .

Шўр тупроқ шароитида кўп миқдорда термотолерант гуруҳларига оид микроорганизмлар учраши аниқланган: галотермоалкалофиллар [ 7 ]; Жилин ва бошқ., 2001), термоалкалофил бактериялар [ 21 ]; [ 32 ].

Бир қатор авторлар томонидан чўл ҳудудларида турли хил микроорганизмлар учраши, ҳамда 30<sup>0</sup>С дан 60<sup>0</sup>С гача ўсиши ҳақидаги нашр этилган ишлари кизиқиш ўйғотади. Шулардан Татаун (жанубий Тунис) иссиқ чўл тупроқларидан 31 тупроқ ажратиб олиб текширилган изолятлари ва *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* авлодига мансублиги ўрганилган (Chanal Anlelique et al., 2006). Молекуляр - генетик услубларидан фойдаланиб идентификация қилинганда кўпроқ био хилма-хиллигини кўрсатди ва *Crenarchaeota*, *Acidobacteria*, *Thermus*, *Deinococcus* авлодига мансублиги аниқланди.

Термофил бактериялар турига қараб, ёши ва ҳарорат таъсирида сезиларли даражада ўзгариши мумкин. Термофил бактерияларнинг морфологик, културал ва биохимик белгилари ёруғлик, люминесцент, электрон микроскоплари ёрдамида, микробиологик ва молекуляр – генетик услубларидан фойдаланиб ўрганилганлиги ҳақида бир нечта илмий ишларда чоп этилган [ 17 ]; [ 5 ]; [ 9 ].

Айрим авторлар термофиллар ипсимон ва спиралсимон кўринишда бўлишини аниқлашган бўлса, бошқа олимлар эса таёкчасимон формадагиларни ўзгаришини кузатишган: чўзилишини, қисқариши, кўпинча букилишини, облигат термофил культураларда эса гигат формаси ҳосил бўлиши кузатилган.

Егорова (1975) изланишларида термофил бактерияларни ёруғлик микроскопида кўрганда *Bacillus* авлодиган мансуб термофил бактериялари 70<sup>0</sup>С да асосан таёқчасимон ва кўш қават таёқчалигини аниқлаган.

Нефт пластинкаларидан ажратисб олинган термофил бактериялар асосан спора ҳосил қилувчи хўжайралар бўлиб, Граммусбат бўялади [ 10 ]. Ультраюпқа кесмаларида культура структураси типик грамманфий бактерия эканлигини тасдиқлади. Углевод оксидловчи термофил бактериялар кенг диапазонда 35 – 75<sup>0</sup>С ўсади ва айрим кандлар, пептон, триптон, ачитқили экстракти ўзлаштириши фарқ қилмайди.

Термофил бактериялар стационар бўлмаган режимда рН ва ҳароратларни кенг диапазонда субстратларни ўзлаштириши шубҳасиз кизиқиш ўйғотади [ 40 ]. Термофил бактерияларни культурал ва биохимик хусусиятлари ўрганилганда аналогик натижаларга эришилди [ 9 ] ачитқи экстракти, органик субстратларда муттасил ўсмаслиги кузатилди, аммо синтетик озуқа муҳитларида витаминларсиз NaCl ёки KCl агарда ўсиши аниқланган.

Термофиллар углеводларни ўзлаштириши ўрганилганда улар галактоза, рибоза, глюкоза, фруктоза, мальтоза, маннитларда ўстириш мобайнида озуқа муҳитида кислота ҳосил қилиши белгиланди, арабиноза, лактоза, рамноза, сорбит кислота ҳосил қилмайди, ҳамда углерод ва энергия манбаи сифатида пептонларда, триптон, ачитқи экстракти, сукцинатдан фойдаланиш мумкин. [ 13 ].

Нашр этилган маълумотларга кўра, термофил микроорганизмлар гуруҳи жадал ўсиш қобилиятига эга. Шунингдек, термофил бактерияларда экспоненциал фазаси давомий эмас. *Bac. circulans* 55<sup>0</sup>С ҳароратда ўсиш лог фазаси 20-25 минутга, 65<sup>0</sup>С эса 15 минут тенг. Энг кўп хужайра сони 55 – 60<sup>0</sup>С да 1 млда  $1,0-1,3 \times 10^9$  тўпланади. Экстремал термофил бактерияларда 70<sup>0</sup>С ҳароратда минимал генерация вақти 52 минутга тенг бўлади, озуқа муҳитида максимал биомасса миқдори эса 6-9 соат ўсганда 1,96 г/л етади.

Термофил бактерияларни ўсиб ривожланиши учун бойитилган озуқа муҳити талаб қилинади. Аммо, шу масала бўйича қарама қарши маълумотлар ҳам бор. [ 17 ], озуқа муҳитида глюкоза, ачитқи экстракти, формиат, пропинат, лактат ва бутират бўлганда метан ҳосил қилмаслигини белгилади. Аммо, изолятларнинг ўсиши учун казамин кислотаси ва триптиноза талаб қилишини кузатди. Панников авторлар билан (2003) олиб борган тадқиқотларида 70<sup>0</sup>Сда термофил бактериялари классик синтетик озуқа муҳитида стабил ўсмаслигини кузатишган. Шу вақтнинг ўзида культураларни комплекс озуқа муҳитида ўстирилганда (пептон + ачитқи экстракти) шу ҳароратда ўсиш тезлиги юқори бўлган. Шундай қилиб авторлар томонидан термофил бактериялар ўсиб ривожланиши учун рибоза, фруктоза, глицерин, мальтоза, маннит, манноза, ксилоза, галактоза, сукцинат ва пируват талаб қилинмаслиги аниқланган. Яхши интенсив ўсиши учун термофил бактерияларга глюкоза зарурлиги кўрсатилган.

## 1.2 Термофил бактериялар ва уларнинг илмий амалий аҳамияти

Термофил микроорганизмлар биотехнологияда юқори истиқболлар билан тадбиқ қилиниши ва шу қаторда табиий ва зарарланган экосистемалардаги экологик функциясининг аҳамияти сабабли фонда муҳим қизиқиш ўйғотади.

Кўпгина тадқиқотчилар томонидан термофил микроорганизмларни турли хил табиий субстратларда учраши, уларнинг генетика, биохимия ва физиологияда ўрганишга бўлган қизиқиши юқорилигига қарамасдан, термофил микроорганизмларнинг иккиламчи метоболизмга етарли даражада кенг ёритилмаган. Маълум бўлган термофил микроорганизмларнинг ичида иккиламчи метоболизм эга бўлган термофил бактерия *Bacillus* авлодининг вакили ҳисобланади. Бу бактериялар гетеротроф ёки автотроф озиқланиш типга мансуб ва юқори кенг диапозонида ўсишга ҳароратларнинг (Michels,

1996) ва Рн [ 31 ], ҳамда юқори стабил ферментлар ҳосил қилиш қобилиятига эга [ 24 ].

Бир нечта изланувчилар такидлашича [ 18 ]; Aagaard, 1996; Kengen, 1996; [ 22 ] , аксарият иккиламчи метаболити термофил бактерияларнинг пептид ва оксил моддаларига қарашли экан. Турли туман биосинтез фаоллиги туфайли термофилардан амалда қимматли метаболитлар олиш мумкин [ 1 ];; Adams, 1992; Silva, 1993). Улар бир қанча термостабил ферментлар манбаи ҳисобланади, шулардан амилаза, липаза [ 23 ], протеаза, пуллулаза, ксиланаза, глюкоза изомераза, глюкозилтрансфераза, ДНК ферментлар метабализми (Raineu, 1994;), диоксигеназалар, кучсизлантирувчи ароматик бирикмалар боғланишини осонлаштиради [ 35 ] ва бир қатор бошқалар.

Есикова ва авторлар(2002) тадқиқотлари давомида Камчатка иссиқ сувларидан ажратиб олинган *Bacillus* авлодига тегишли термофил бактериясининг антибиотик фаоллигини ўрганиши мўайян қизиқиш ўйғотди. Изланувчилар аниқлашларича, бацилляр термофил бактериялари кенг спектр тест-культураларга турли хил антагонистик таъсирини намоён қилди. Ўрганилган бациллалар ичида танлаб олинган *Bacillus sp.* VK2 штамми юқори антибиотик фаоллигига эга эканлиги кузатилди.

Кўпгина нашр этилган илмий ишлар сони термофил микроорганизмларга аталган бўлишига қарамасдан, чўл ва шўрланган тупроқларда термофил бактерияларнинг тарқалиши, миқдори ва физиологик хусусиятлари етарли даражада ёритиб берилмаган.

## II – БОБ . МАТЕРИАЛЛАР ВА ИШ УСЛУБЛАРИ

Термофил бактерияларни ўстириш учун ризосферадан олинган тупроқ намунаси давомли суюқ озуқа муҳитида ушланди ҳамда гушт пептон, пептон озуқа муҳитида 40, 50, 55, 60 C<sup>0</sup> ҳароратларида 3-5 кун давомида ўстирилди. Термофил бактерияларни ажратиб олиш Д. Звягинцев, Н.С.Егоров, А.И.Нетрусов (1991, 1995, 2005) ларнинг амалиёт қўлланмаларида кўрсатилган микробиологик усуллар ёрдамида амалга оширилди ва қўйидаги озуқа муҳитлар ишлатилди (г/л):

а) Na цитрати – 1,29, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 1,92, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 9,3, MgSO<sub>4</sub> \*7H<sub>2</sub>O – 0,2, глюкоза – 19,0, дистиллирланган сув – 1 л гача.

б) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 0,33, NH<sub>4</sub>Cl – 0,33, CaCl<sub>2</sub>\*6H<sub>2</sub>O – 0,33, MgCl<sub>2</sub> – 0,33, ачитки экстракти – 0,5, Липнерт эритмаси бўйича микроэлементлар: - 1 мл, глюкоза 1%, дистиллирланган сув – 1 л гача.

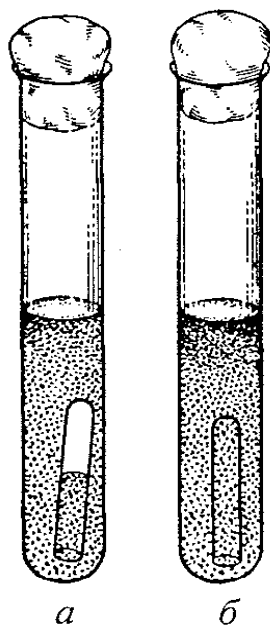
Ажратиб олинган бактерияларнинг термофиллик хусусиятлари юқорида кўрсатилган ҳароратларда суюқ ва каттик озуқа муҳитларида ўстириш билан ўрганилди. Ўсиш даражасини аниқлашда лойкаланиш, озуқа муҳитларини юзасида парда ҳосил қилиш, чўкмаларни ҳосил бўлиши кузатилди ҳамда микроскоп орқали аниқланди.

Ажратилган тоза термофил бактерияларнинг культурал-морфологик ва физиологик-биокимёвий хусусиятларини ўрганишда, умумий қабул қилинган тупроқ микробиологияси усуллари ёритилган, “Большой практикум по микробиологии”, “Практикум по микробиологии”, “Методы почвенной микробиологии и биохимии” қўлланмаларидан фойдаланилди. Колониялар кўриниши ва ўлчами МБС-10 лупалар ёрдамида аниқланди. хужайра ўлчами, Грам бўйича бўялиши «Leica DM 1000» (Германия) ёруғлик микроскопида кўрилди. Культурал белгилари (формаси ва колония ўлчами, юзаси, профили, ранги, структураси) ПА ва ГПА ўрганилди (Егоров, 1995).

### Расм 1. Найчаларда газ тўпланиши:

#### а. Газ ҳосил бўлган;

#### б. Газ ҳосил бўлмаган



Физиологик – биохимик белгилари озуқа муҳитига 0,5% концентрацияда углеводлар, спирт ва аминокислоталар қўшилиши ёрдамида ўрганилди.

Микроорганизмлар турли хил углевод ва спиртлардан ягона углерод ва энергия манбаи сифатида бир хилда фойдаланмайди. Кўпчилик гетеротроф микроорганизмларни аниқлаш учун

ўрганилаётган микроорганизмлар ўсишини таъминловчи углевод ва спирт турлари ва қандай таркибдаги муҳитларда микроорганизмларнинг ўсиши кузатилишини билиш керак.

Углерод ва энергия манбаи сифатида: глюкоза, фруктоза, сахароза, рибоза, трегалоза, целлобиоза, манноза, галактоза, ҳамда спиртлардан сорбит, маннит, дульцит ва аминокислоталар ишлатилади (Нетрусов, 2005).

Углевод тутган муҳитларда ўсган микроорганизмлар органик кислота, нейтрал маҳсулотлар ва газларни ҳосил қилади. Кислота ҳосил бўлишини рН ўзгариш билан билиш мумкин. Углевод ва спиртлар муҳитга 1% миқдорда қўшилади. Асосий озуқа муҳити 0,5 % пептон ва 0,1%  $K_2HPO_4$  ва сувдан иборат. Газ ҳосил бўлганини аниқлаш учун муҳитга газ ҳосил бўлиши билан қалқиб чиқувчи бир томони ёпиқ узунлиги 35-40 мм, диаметри 5-7 ммли найчалар солинади ( а, б расмлар). Углевод ва спирт тутган барча муҳитларга ўрганилаётган культура хужайраларининг 0,1-0,2 мл суспензияси бир вақтнинг ўзида экилади. Агар ўрганилаётган микроорганизм тез ривожланса, 48-96 соатда натижаларни олиш мумкин, секин ривожланса 7-10 суткада кузатилади.

Краxмал ва желатин гидролизи, каталаза фаоллиги, аммиак, индол, сероводород ҳосил қилиши умумий қабул қилинган услубда қўлланилди (Егоров, 1995).

### **Краxмал гидролизи.**

Краxмал гидролизинини амалга оширувчи микроорганизмлар амилаза ишлаб чиқаради ва краxмал гидролизи маҳсулотларини углерод ва энергия манбаи сифатида фойдаланади. Буни аниқлаш учун қуйидаги таркибли озуқа муҳитидан фойдаланилади( г л).

1. Пептон - 1,0
  2.  $K_2HPO_4$  - 0.5
  3. Краxмал - 0.2
  4. Агар агар- 1.5
  5.  $H_2O$  ( дис) - 1л
- pH 6.8 -7.0

**Тайёрлаш усули:** 40 мл озуқа муҳити, 1 ат.б.стерилланган иккита петри чашкасига қуйилади. Озуқа муҳити қотгандан сўнг ўрганилаётган култура штрих усули ёрдамида экилади. Култивация давомийлиги 7 - 10 суткани ташкил этади. Ўрганилаётган турни агар пластинкаларини Люгол эритмасида бўяш орқали кўришимиз мумкин. Краxмал Люгол эритмасида кўк ранга бўялиб, краxмал гидролизланган зонада еса рангсиз ёки қизғиш рангга эга бўлади.

### **Желатин гидролизи.**

Желатин парчаловчи микроорганизмлар протеолитик ферментлар (коллогеназалар) ишлаб чиқаради. Ўрганилаётган микроорганизмларнинг ушбу хусусиятини аниқлаш учун гўшт пептон желатин (ГПЖ) озуқа муҳитига экилади.

**Тайёрлаш усули:** гўшт пептон қайнатмасига (ГПК) 10 -15% желатин қўшилади, 20 -30 мин қолдирилади. Маълум вақтдан сўнг желатин бўкади,

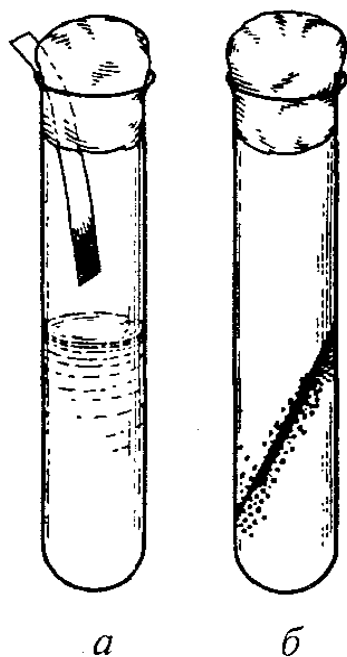
сўнгра аралашма сув ҳаммомида қиздирилади. 0,5 ат.б да 15 мин давомида стерилизация қилинади.

### **Индол ҳосил қилиши.**

Кўпчилик микроорганизмлар ривожланиш босқичида триптофандан индол ҳосил қилади. Индол ҳосил бўлиши триптофаназа фаоллиги билан белгиланади ва энг муҳим диагностик хусусият ҳисобланади.

### **Тайёрлаш усули:**

0,01% триптофан тутган ГПК пробиркаларга 8 -10 мл дан қуйилади, 0,5 ат.б стеризацияланиб ўрганилаётган организм экилади. 5- 7 суткадан сўнг экилган культура индолга сифат реаксияси ўтказилади. Бунинг учун культура юзасига чайқатмасдан 1- 2 мл Эрлиха реактиви қўшилади. Қизил ранг ҳосил бўлиши индол борлигини билдиради.



### **Водород сульфид ҳосил қилиши**

**Расм 2. Водород сульфидни ҳосил бўлишини аниқлаш: а.фильтр қоғозни қорайиши б. FeSни муҳитда ҳосил бўлиши**

Баъзи микроорганизмлар метаболизм жараёнида водород сульфид ҳосил қилади. Метаболизм жараёнида таркибида олтингугурт сақловчи аминокислоталар, масалан, цистеин, цистин, метионинлардан фойдаланилади. Бу хусусиятни аниқлаш учун ГПК пробиркаларга 8-10 мл дан қуйилади, 1 ат.б

стерилизацияланади ва ўрганилаётган микроорганизмлар экилади. Экилгандан сўнг эса муҳит устига кўрғошин ацетат эритмаси билан тўйинтирилган қоғоз бўлаги жойлаштирилади. Пробирка тиқини селлофан билан ўралиб, водород сульфид учиб кетиш олди олинади (а,б расмлар). Культивация давомийлиги 7-10 суткани ташкил этади.

Термофил бактерияларнинг таксономик ўрни аниқланишида Берги бактериялар аниқлагичидан фойдаланилди. (Bergey, 1997).

Культуралар стационар усулда ўстирилди. Органик қўшимча сифатида пептон (1 г/л), глюкоза (1 г/л), ачитқи экстракти (5 г/л) қўшилди.

Термофил бактерияларнинг турли хил озуқа муҳитларда интенсив ўсиши ва биомассаси спектрофотометр СФ-46 «Ломо» (Россия) ёруғлик 548 нм тўлқин узунлигида аниқланди.

Иккиламчи метаболит, яъни антифунгал таъсирига эгалиги фитопатоген тест микроорганизмлари: *Fusarium oxysporum*, *F. vasinfectum*, *F. solani*, *Verticillium dahliae* ва бактериялардан *Xanthomons campestris p.v. malvacearum* ларга қарши агарли блоклар қўллаш усулида аниқланди (Егоров, 1995 ва 2003).

### III-БОБ. ТАДКИКОТ НАТИЖАЛАРИ ВА УЛАРНИНГ ТАХЛИЛИ

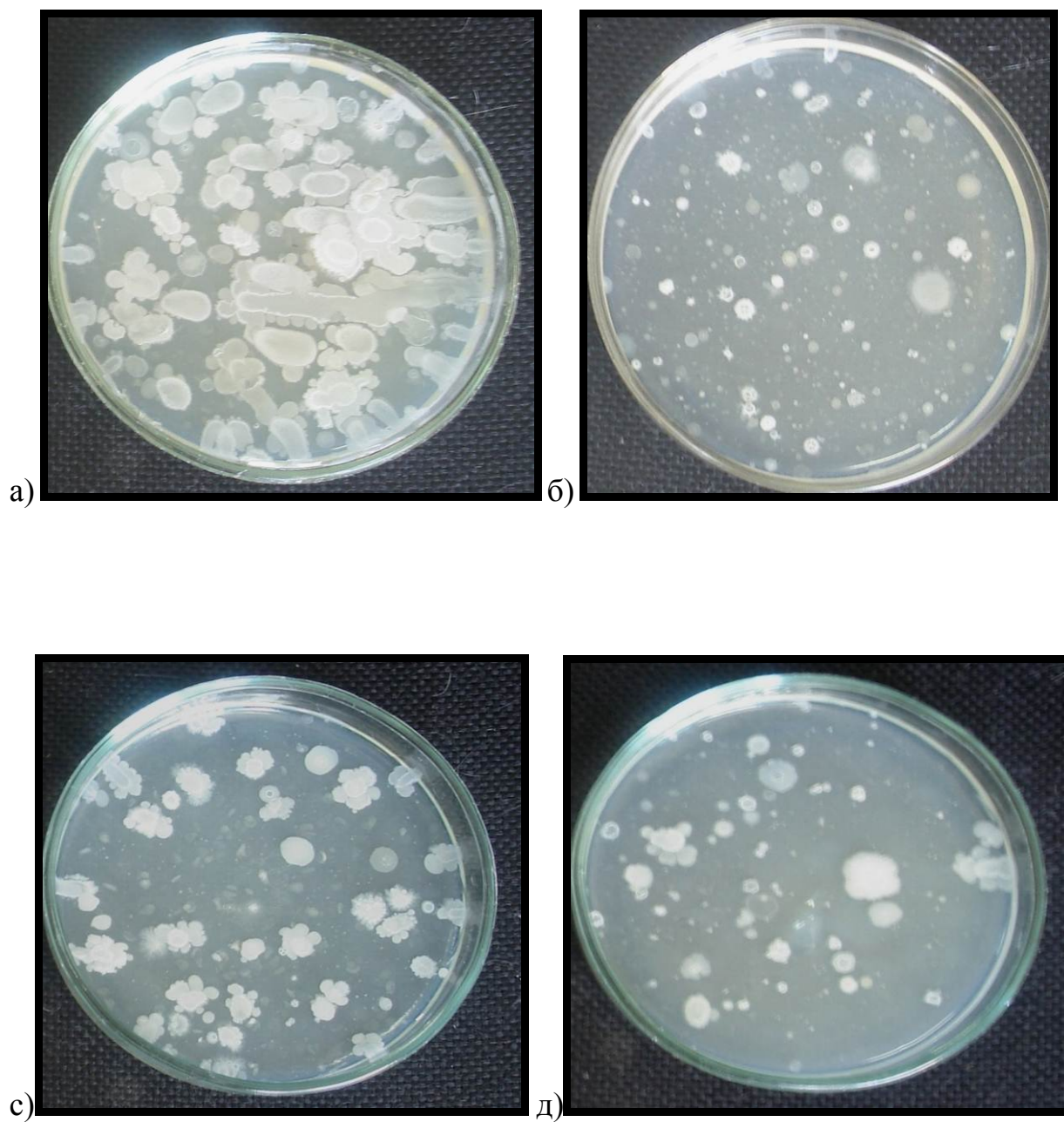
#### 3.1. Чўл тупроғи ва чўл ўсимликлари ризосферасидан термофил бактерияларни ажратиб олиш

Бухора вилоятининг чўл тупроғи ва чўл ўсимликлари ризосферасидан олиб келинган 12 намуналардан 55 йиғма тупроқ изолятлари ажратиб олинди. Бу изолятлар озуқа муҳитида юқори ҳароратда ўсиш қобилиятига эгаллиги синалди. (жадвал 1. ) 1 жадвалдан кўриниб турибдики, изолятлар орасида 50-55<sup>0</sup>С ўсувчи бактериялар, яъни термотолерантлар, 60<sup>0</sup>С ўсувчилар, яъни факультатив термофиллар гуруҳлари бор. Шулардан 31 штамм 60<sup>0</sup>С ўсиши билан термофил бактерияларга мансублиги аниқланди.

**Жадвал 1.**

#### Шўрланган тупроқлардан ажратиб олинган термофил бактериялар йиғмаси

| Намуна № | Намуна олинган жой           | Ажратиб олинган йиғма бактериялар сони | Турли ҳароратларда <sup>0</sup> С ўсиши |    |                  |
|----------|------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|----|------------------|
|          |                              |                                        | 50                                      | 55 | 60               |
| 6а       | Бухоро вилояти               | 12                                     | +                                       | +  | +                |
| 10в      | Тақир кулранг сариқ - тупроқ | 9                                      | +                                       | +  | ажратиб олинмади |
| 3        | Саксаул ризосфераси          | 8                                      | +                                       | +  | +                |
| 17       | Чўл ўсимлиги тупроғи         | 15                                     | +                                       | +  | ажратиб олинмади |
| 23       | Янтоқ ризосфераси            | 11                                     | +                                       | +  | +                |
| Микдори  |                              | 55                                     |                                         |    |                  |



Расм 3. Термофил бактериялар ГПС озуқа муҳитида 50<sup>0</sup>С ҳароратда  
ўсиши

а) саксаул ризосфераси, б) такир кулранг сариқ – тупроқ

с, д) янтоқ ризосфераси

Ажратиб олинган термофил бактериялар сони ҳарорат оширилган сайин сони камайиб борди. Бу термофил бактериялар юқори ҳароратда ўсиши ва мезофил шароитда ҳам ривожланиши мумкин, шунинг учун улар термотолерант бактериялар деб қабул қилинди. ( расм 3)

### **3.2. Термофил бактерияларнинг морфологик культурал хусусиятларини ўрганиш, уларнинг таксономик ўрнини аниқлаш**

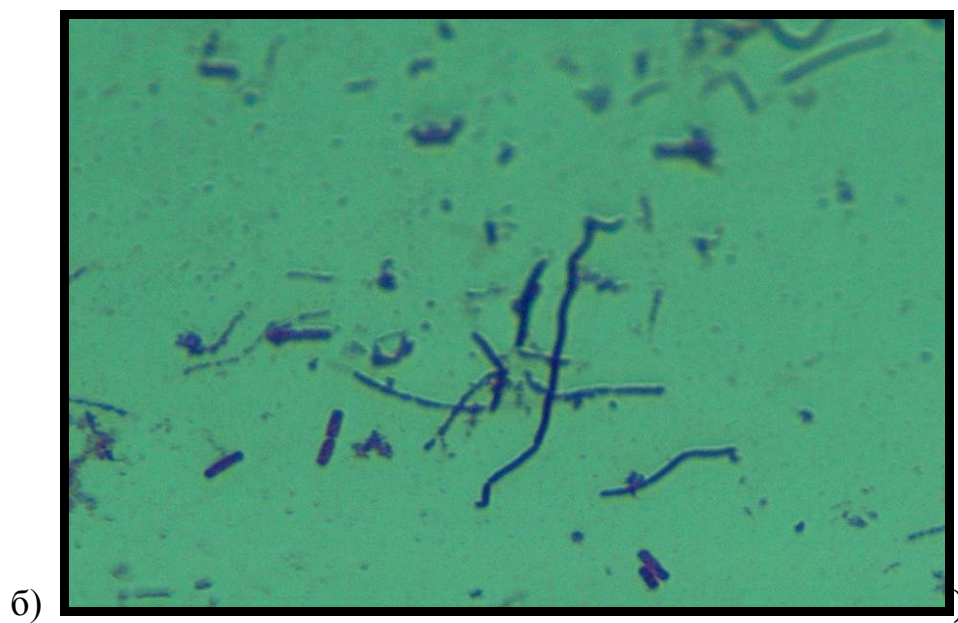
Тоза културага 13 та термофил бактериялари ажратиб олинди ва морфологик – культурал хусусиятларни ўрганиш давомида аниқландики, 8 соатлик культуралар ҳаракатчан таёқча бўлиб, алоҳида ёки занжирсимон йиғилган. Хужайралар ўртача ўлчами 2,4-4,0 x 0,8 мкм. Танлаб олинган штаммлар барчаси грам мусбат, спора ҳосил қилувчи. Суюқ озуқа муҳитида калин парда ҳамда чўкма ҳосил қилади. Қаттиқ озуқа муҳитида бир типда: бошланишида кулранг-оқ, кейин оқ бўлади, юмалоқ, асосан текис, ички қисми кўтарилган холда ҳам учрайди, петляда осон олинади, ( Жадвал 2. )

Штамм 610 – 60<sup>0</sup>С ҳароратда хужайраси ингичка таёқчасимон, 2,5 x 4,0-0,8 мкм, хужайра сўнгида юмалоқ шакилда, алоҳида ва қисқа занжир ҳосил қилади, спора ҳосил қилади, Грам мусбат бўялади (расм 4). Колонияси агарда бошланиш даврида шаффоф, кейин қораяди: колонияси силлиқ, ялтироқ, юмалоқ, текис. Суюқ озуқа муҳитида эса – калин қатлам, чўкма ҳосил қилади. Штамм 610 ва 509 оксидаза, каталаза ҳосил қилади, крахмал ва желатин гидролиз қилмайди. Аэроб. Сероводород ва индол ҳосил қилмайди (жадвал 3).

## Жадвал 2

**Бухоро вилоятидан ажратиб олинган термофил бактериялар  
хусусиятлари**

| Ажратиб олиш манбаси | Штамм № | Ҳарорат, °С | Хужайра формаси ва ўлчами                                                                              | Грам бўйича бўялиши | Пептон озуқа муҳитида колонияси                                                                                                           |
|----------------------|---------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Чўл тупроғи          | 506     | 55          | Ҳаракатчан, кичик таёқча, 0,9-1,0x0,5 мкм                                                              | Грам (+)            | Колонияларни тўғри кулранг – оқ рангда, бир оз буришган, 2-3 мм ўлчамда                                                                   |
|                      | 509     | 60          | Ҳаракатчан таёқча, 10-12x1,5 мкм                                                                       | Грам (+)            | Колонияси юмалоқ, тўғри, буришган кулранг – оқ рангда                                                                                     |
| Саксаул Ризосфераси  | 605с    | 60          | Охири юмалоқ шаклда таёқчалар, занжир ҳосил қилади, 4-5 хужайра занжирлардан ибора тўлчами 3-4x0,6 мкм | Грам (+)            | Колония маркази кўтарилган юмалоқ, кулранг-оқ, петляда осон олинади. Ўлчами 1-2 мм. Суюқ озуқа муҳитида хира чўкма ҳосил қилади,          |
| Янтоқ ризосфераси    | 612я    | 60          | Ҳаракатчан таёқча 4-5 хужайрадан иборат занжир ҳосил қилади, ўлчами 3-4x0,6 мкм                        | Грам (+)            | Колонияси сарғиш, ялтироқ, юмалоқ шаклда, юзаси текис, ўлчами 3-4 мм. Суюқ озуқа муҳити хиралашган, чўкма ҳосил қилади                    |
|                      | 615я    | 55          | Таёқча, 4-6x0,8-1,0 мкм ўлчамда алоҳида занжир ҳосил қилади                                            | Грам (+)            | Агарда колонияси кулранг-оқ рангда, ялтироқ. Юзаси текис, суюқ озуқа муҳитида кучли лойқаланиш, чўкма ҳосил қилади. Колония ўлчами 1-3 мм |



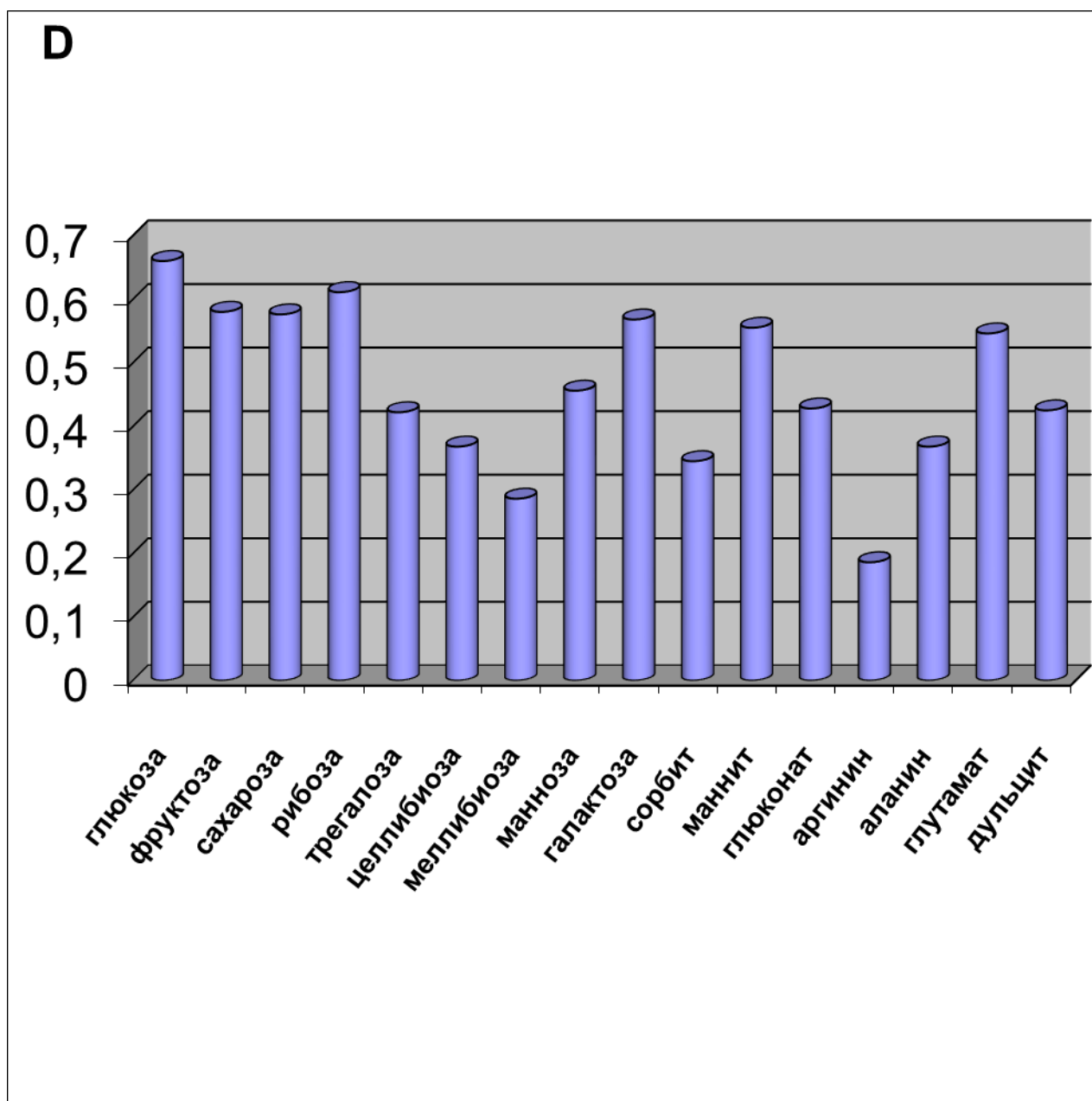
Расм 4. Хужайра морфологияси штамм 610 ва штамм 509 60°C ҳароратда ўсганда (ёруғлик микроскопи, 1225 марта катталаштирилганда)

а) штамм 610; б) штамм 509

**Термофил бактерияларнинг физиологик-биохимик хусусиятлари**

| Белгилари                | Штамм             |                   |
|--------------------------|-------------------|-------------------|
|                          | 610               | 509               |
| Грам бўйича бўялиши      | Ижобий            | Ижобий            |
| Спора ҳосил қилиши       | +                 | +                 |
| Кислородга муносабати    | Аэроб             | Аэроб             |
| Ҳарорат °С               | 45-60             | 45-60             |
| рН                       | 7,5-8,0           | 7,0-8,0           |
| Оксидаза фаоллиги        | Оксидаза – ижобий | Оксидаза – ижобий |
| Каталаза фаоллиги        | Каталаза – ижобий | Каталаза – ижобий |
| Желатин гидролизи        | -                 | - +               |
| Крахмал гидролизи        | -                 | +                 |
| Сероводород ҳосил қилиши | -                 | -                 |
| Индол ҳосил қилиши       | -                 | -                 |

Изоҳ: «+/-» – мавжудлиги /белгиларни йўқлиги



Расм 5. Термофил бактерия штамм 610 айрим субстратларни ўзлаштириши

Штамм 610 ни физиологик – биохимик хусусиятларидан турли хил субстратлар яъни углеводлар, аминокислоталар, спиртларни ўзлаштириши ўрганилди. Тажрибалар шуни кўрсатадики, штамм 610 глюкоза, сахароза, рибоза, трегалоза, целлобиоза, галактоза, маннит, дульцит, глутаматни яхши ўзлаштиради. Аммо, меллибиоза, сорбит, аргининни кучсиз ўзлаштириши кузатилди (расм 5).

Олиб борилган тадқиқотлар натижасида штамм 610 *Bacillus circulans* турига мансублиги аниқланди. Қолган штаммлар *Bacillus* авлодига мансублиги аниқланди.

### **3.3. Термофил бактерияларнинг ўсиш тезлиги ва ривожланиши**

Термофил бактерияларнинг яхши ўсиши ва ривожланиши учун картошка қайнатмаси, ГПС, турли хил органик ва минерал компонентлар (пептон, ачитқи сув, глюкоза, сахароза)дан фойдаланиб озуқа муҳити танлаб олинди.

Картошка қайнатмаси термофил бактерияларнинг ўсишида ижобий таъсир кўрсатди ва энг кўп биомасса тўплаши кузатилди. Бунда хужайра титри 1,5-2 марта кўпайди. ГПС фойдалинганда ҳам ижобий натижа кўрсатди. Картошка қайнатмаси ва ГПС комплекс холда қўлланилганда хужайра титрини 12-16 соатда оширгани кузатилди.

Танлаб олинган озуқа муҳитига глюкоза ва сахароза қўшимча тарзда қўшилганда термофил бактериялар биомасса тўпланишини оширади, давомий лаг-фазани қисқартириши кузатилди.

Олиб борилган тажрибалар натижасида 20% тиндирилган картошка қайнатмаси ва ГПС 2:1 нисбатда, (1%) глюкоза қўшимчаси энг яхши

оптималь озуқа муҳити сифатида танлаб олинди. Кейинги тажрибаларимизда термофил бактериялар ўрганишда шу озуқа муҳити ишлатилди.

Термофил бактериялар 50, 55, 60°C ҳароратда ўстирилганда, ўрганилаётган термофил бактериялар учун энг яхши оптимал ҳарорат 60°C эканлигини намоён бўлди. Бунда танлаб олинган озуқа муҳитида термофил штаммлари 506, 605 ва 610 оптимал биомасса зичлиги 0,48-0,52, тенглиги энг кам биомасса зичлиги 0,24, эса 612 штаммида аниқланди. (жадвал 4).

**Жадвал 4**

**Термофил бактерияларни 60°C да турли хил таркибли озуқа муҳитларида ўсиш тезлиги (биомасса, оптик зичлиги)**

| Озуқа муҳити таркиби                                  | Штаммлар |      |      |      |
|-------------------------------------------------------|----------|------|------|------|
|                                                       | 506      | 605  | 610  | 612  |
| Пептон +0,5% ачитқили экстракт                        | 0,32     | 0,28 | 0,35 | 0,27 |
| 20% картошка қайнатмаси (КҚ) + 0,5% ачитқили экстракт | 0,36     | 0,36 | 0,40 | 0,38 |
| ГПС + 0,5% ачитқили экстракт                          | 0,38     | 0,37 | 0,46 | 0,24 |
| 20% картошка қайнатмаси + ГПС +1% глюкоза             | 0,48     | 0,43 | 0,52 | 0,33 |

### 3.4. Фаол термофил бактерия штаммларининг антагонистик хусусияти

Сўнги йилларда микроорганизмларнинг биологик фаоллиги бўйича, механизмини ўрганиш,— фитопатоген микроорганизмларга қарши антагонистларни ўсиши, ва ривожланиши ҳақида маълумотлар тўпланган. Аммо, ташқи муҳит таъсирида экстремал шароитда чўл ўсимликлари ризобактерияларни функцияси ва улар иштирокида фитопатогенларни ўсишини чекланиши ҳақида биз ўрганган адабиётларда учрамади.

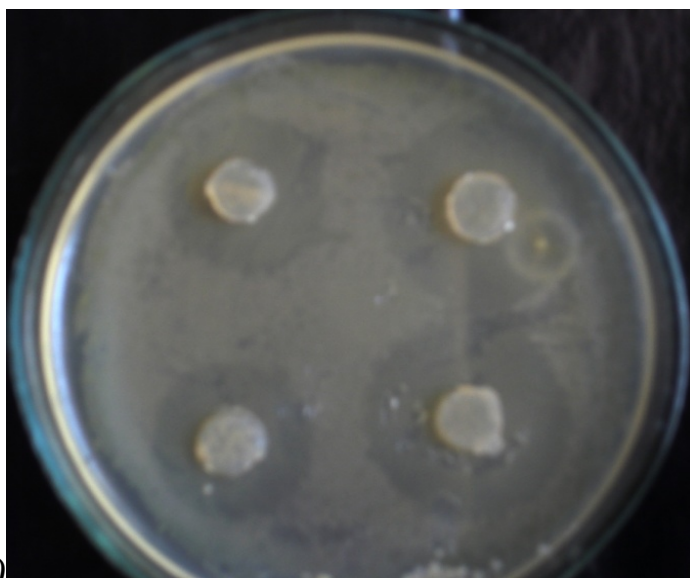
Шу сабабли танлаб олинган термофил бактерияларни антагонистларга қарши хусусиятларини ўрганиш учун тадқиқот ишлари олиб борилди. Олиб борилган тадқиқот ишларида термофил бактерия фитопатоген микроскопик замбуруғларига: *Fusarium oxysporum*, *F. vasinfectum*, *F. solani*, *Verticillium dahliae* ва *Xanthomonas campestris pv. malvacearum* қарши фаоллиги кенг чегарада бўлиши аниқланди. (жадвал 5,6расм)

5—Жадвалдан кўриниб турибдики, танлаб олинган термофил бактериялари фитопатоген бактерия *Xanthomonas campestris pv. malvacearum* қарши (25 – 30 мм), ва фитопатоген микроскопик замбуруғларга *Fusarium oxysporum*, *F. vasinfectum* қарши (15 – 20 мм) таъсири ўрганилди.

**Жадвал 5**

#### Термофил бактериялар синалган фитопатогенларга қарши таъсири

| Штамм      | Патогенларнинг ўсишини ингибирлаш зонаси (диаметр мм) |                       |                  |                             |                                               |
|------------|-------------------------------------------------------|-----------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------------------------|
|            | <i>F. oxysporum</i>                                   | <i>F. vasinfectum</i> | <i>F. solani</i> | <i>Verticillium dahliae</i> | <i>Xanthomonas campestris pv. malvacearum</i> |
| <b>506</b> | 10,0                                                  | -                     | 0,8              | -                           | 25,0                                          |
| <b>605</b> | 12,0                                                  | -                     | -                | 0,7                         | -                                             |
| <b>610</b> | 16,0                                                  | 15,0                  | -                | -                           | 30,0                                          |
| <b>612</b> | 20,0                                                  | 10,0                  | 18,0             | -                           | -                                             |



a)

*Fusarium oxysporum*



б)

*Xanthomonas campestris* pv. *Malvacearum*

Расм 6. Термофил бактерияси *Bacillus circulans* 610 *Fusarium oxysporum*

(а) ва *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* (б) замбуруғларга қарши  
антагонистик фаоллиги

## ХУЛОСАЛАР:

1. Бухоро вилояти чўл ва тақир ҳудудларидаги шўрхок, кулранг қўнғир шўр тупроқларидан ва чўл ўсимликлари ризосферасидан 50°-60 °С ҳароратда электив озукали муҳитида ўсувчи 55 йиғма термофил бактериялар, ва 13 тоза културалари ажратиб олинди.
2. Тадқиқотдаги штамларни хусусиятлари ўрганилди ва *Bacillus* авлодига мансублиги аниқланди. 610 штамм *Bacillus circulans* турига мансублиги аниқланди.
3. Термофил бактерияларнинг ўсиши ва ривожланиши учун озуқа муҳити ва ўстириш шароити танлаб олинди
4. Фаол термофил бактерияларнинг 506, 605, 610, 606 12 та штаммлари фитопатоген замбуруғларга қарши антагонистик фаолиikka эга. Ажратиб олинган штаммлардан фитопатоген замбуруғ ва бактерия касалликларига қарши экологик хавфсиз биопрепаратлар ишлаб чиқишда ва биотехнологик жараёнларда фойдаланиш мумкин.

## ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР РУЙХАТИ

1. Александров В.Я. Макромолекулярные основы термофилии // Биология термофильных микроорганизмов. М.: Наука, 1986. с. 57-63.
2. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология // Москва, «Академия» 2006. стр. 460
3. Егорова Л.А. Рост и развитие экстремально термофильных бактерий при 70°C. Микробиология, 1975, Т. XLIV, Вып. 1, стр. 141-146.
4. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: Изд. МГУ, 1995. – 205с.
5. Есикова Т.З., Темиров Ю.В., Соколов С.Л., Аллахов Ю.Б. Вторичные метаболиты актимикробного действия, продуцируемые термофильными штаммами *Bacillus* sp. VK2 и VK21. Жур. Прикладная биохимии и микробиология. 2002. Т. 38. № 3. с. 261-267.
6. Ешинимаев Б.Ц., Медведкова К.А., Хмеленина В.Н., Сузина Н.Е., Осипов Г.А., Лысенко А.М., Троценко Ю.А. Новые термофильные метанотрофы рода *Methylocalcium*. Микробиология 2004. Т.73. № 4. с.530-539.
7. Заварзин Г.А., Жилина Т.Н., Кевбрин В.В. Алкалофильное микробное сообщество и его функциональное разнообразие // Микробиология 1999. Т.68. с.579-599.
8. Методы почвенной микробиологии и биохимии // Под ред. Д. Г. Звягинцева – М.: Изд-во МГУ, 1991.
9. Меламуд В.С., Пивоварова Т.А., Турова Т.П., Колганова Т.В., Осипов Г.А., Лысенко А.М., Кондратьева Т.Ф., Каравайко Г.И. Новая умеренно термофильная бактерия *Sulfobacillus sibiricus* sp. nov. Микробиология. 2003. Т. 72. № 5. с. 681-688.

- 10.Назина Т.Н., Турова Т.П., Полтараус А.Б., Новикова Е.И., Иванова А.Е., Григорьян А.А., Лысенко А.М., Беляев С.С. Физиологическое и филогенетическое разнообразие термофильных спорообразующих углеводородокисляющих бактерий из нефтяных пластов // Микробиология. 2000. Т.69.№ 1. с. 113-119.
- 11.Определитель бактерий Берджи: в 2-томах // Под ред. Джона Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса – М. Мир. 1997. 799с.
- 12.Полякова А.А. Сунцова Л.А. // Новые термофильные сульфатовосстанавливающие бактерии из высокотемпературного нефтяного месторождения // Горизонты физ-хим.биол. : Шк-конф. Пущино, 28 мая-2 июня. 2000. Т.2 – Пущино, 2000 – с. 106-107.
- 13.Попов Н.А., Николаев Ю.А., Турова Т.П., Лысенко А.М., Осипов Г.А., Верховцева В.В., Паников Н.С. *Geobacillus uralicus* – новый вид термофильных бактерий. Микробиология. 2002. Т. 71. № 3. с. 391-398.
- 14.Паников Н.С., Попова Н.А., Дорофеев Ф.Г., Николаев Ю.А. Рост термофильной бактерии *Geobacillus uralicus* в зависимости от температуры и pH: кинетический анализ с использованием СХМ Микробиология, 2003, том 72, № 3, с. 320 - 327.
- 15.Практикум по микробиологии // под ред. А.Н.Нетрусова, М. «Академия» 2005г. 600с.
- 16.Слободкин А.И., Ерощев-Шак В.А., Кострикина Н.А., Лаврушин В.Ю., Дайнек Л.Г., Заварзин Г.А. Образование магнетита термофильными анаэробными микроорганизмами // Докл. АН. 1995. Т.345. №5. с. 694-697.
- 17.Щербакова В.А., Образцова А.Я., Лауринавичус К.С., Котельникова С.В., Акименко В.К., Навоа М.К., Круз М. Физиологические свойства термофильных метаносарцин, выделенных из активного ила метантанков Микробиология 1991 т.60. вып 3 с. 466-470.
- 18.Aguilar A. // FEMS Microbiol. Rev. 1996. V. 18. № 2-3. P. 89-92.
- 19.Alejandro Santiago-Hernandez., Jesus Vega-Estrada., Maria del Carmen Montes-Horcasitas., Maria Eugenia Hidalgo-Lara. Purification and

- characterization of two sugarcane bagasse-absorbable thermophilic xylanases from the mesophilic *Cellulomonas flavigena* J. Ind Microbiol Biotechnol (2007) 34:331-338 DOI 10.1007/s10295-006-0202-4.
20. Boone D.R., Liu Y., Zhao Z.J., Balkwill D.L., Drake G.R. Stelens reducing anaerobe from the deep terrestrial subsurface // Int. J. Syst. Bacterid. 1995. V.45. P. 441-448.
  21. Cook G.M., Russell J.B., Reichert A., Wiegel J. The intracellular pH of *Clostridium paradoxum*, an anaerobic, alkaliphilic, and thermophilic bacterium // Appl. Environ. Microbiol. 1996. vol. 62. p. 4576-4579.
  22. Daniel RM, Cowan DA (2000) Biomolecular stability and life at high temperatures. Cell Mol Life Sci 57:250–264.
  23. Fornelli S (1993) Enzymatic treatment of protein fibres — state-of-the-art biotechnology. Int Dyer 7:29–33
  24. Hei D.J. Clark DS (1994) Pressure stabilization of proteins from extreme thermophiles. Appl Environ Microbiol 60:932-939.
  25. Kohli U., Nigam P., Singh D., Chaudhary K. Thermostable, alkalophilic and cellulose free xylanase production by *Thermoactinomyces thalophilus* subgroup C // Enzyme Microb. Technol. 2001. vol. 28. p. 606-610.
  26. Koji Mori., Hongik Kim., Takeshi Kakegawa., Satoshi Hanada. A novel lineage of sulfate-reducing microorganisms: *Thermodesulfobiaceae* fam. nov., *Thermodesulfobium narugense*, gen. nov., sp. nov., a new thermophilic isolate from a hot spring. Extremophiles (2003) 7:283-290 DOI 10.1007/s00792-003-0320-0.
  27. Larsen Lise., Nielsen Peter., Ahring Birgitte K // *Thermoanaerobacter mathranii* sp. nov., an ethanol-producing, extremely thermophilic anaerobic bacterium from a hot spring in Iceland / Arch. Microbiol. 1997. 168 № 2. P. 114-119.
  28. Li Cong-ying., Zeng Xiao-Li., Shi Xian-ai., Meng Chun., Guo Yang-hao // Fuzhou daxue xuebao. Ziran kexue ban. J. Fuzhou. Univ. Natur. Sci. Ed. 2003 31. №4. P. 499-502.

29. Li Y., Engle M., Mandelco L., Wiegel J. *Clostridium thermoalkalophilum* sp. nov., an anaerobic and thermotolerant facultative alkaliphile // Int. J. Syst. Bacteriol. 1994. vol. 44. p. 111-118.
30. Michels P.C., Hei D., Clark DS (1996) Pressure effects on enzyme activity and stability at high temperatures. Adv Protein Chem 48:341-376.
31. Nielsen P., Fritze D., Priest F.G (1995) Phenetic diversity of alkaliphilic *Bacillus* strains – proposal for 9 new species. Microbiol. UK 141: 1745 – 1761. Olsson K., Keis S., Morgan H.W. et al. Bioenergetic properties of the thermoalkaliphilic *Bacillus* sp. strain TA2.A1 // J. Bacteriol. 2003. vol. 185. p. 461-465.
32. Pikuta E., Lysenko A., Suzina N., Osipov G., Kuznetsov B., Tourova T., Akimenko V., Laurinavichius K. *Desulfotomaculum alkaliphilum* sp. nov., a new alkaliphilic, moderately thermophilic, sulfate-reducing bacterium // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2000. vol. 50. p. 25-33.
33. Slobodkin A.I., Campbell B., Cary S.C., Bonch - Osmolovskaya E., Jeanthon C. Evidence for the presence of thermophilic Fe (III) – reducing microorganisms in deep-sea hydrothermal vents at 13<sup>0</sup>N (East Pacific Rise) // FEMS Microbiol. Ecol. 2001. V.36. P.235-243.
34. Shimura M., Mukerjee – Dhar G., Kimbara K., Nagato H., Kigohara H., Hatta T. Isolation and characterization of a thermophilic *Bacillus* sp. JF8 capable of degrading polychlorinated biphenyls and naphthalene // FEMS Microbiol. Lett. 1999. V. 178. P. 87-93.
35. Takai K., Horikoshi K (2000) *Thermosiphon japonicus* sp. nov., an extremely thermophilic bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vents in Japan. Extremophiles 4:9-17.
36. Zinder S.H., Mah R.A // Appl. Environm. Microbiol. 1979. V.38. P.996
37. Zinder S.H., Sowers K.R., Ferry J.G. // Internat. J. System Bacteriol. 1985. V.35. P. 522.

38. Yamamoto H., Hiraishi A., Kato K., Chiura H.X., Maki Y., Shimizu A. Phylogenetic evidence for the existence of novel thermophilic bacteria in hot-spring sulfur-turf microbial mats in Japan // Appl. Environ. Microbiol. 1998. V.64. p. 1680-1687
39. Wiegel J. Anaerobic alkalithermophilis a novel group of extremophiles // Extremophiles. 1998. vol. 2. P. 257-267.