

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.В.38.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

КАДИРОВА ГУЛЧЕХРА ХАКИМОВНА

**ЭКСТРЕМАЛ ШАРОИТЛАРДА МОЛЕКУЛЯР АЗОТНИ
ЎЗЛАШТИРУВЧИ ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАРНИНГ БИОЛОГИК
ХУСУСИЯТЛАРИ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2018

Фан доктори (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора наук (DSc)

Contents of dissertation abstract of doctor of science (DSc)

Кадирова Гулчехра Хакимовна

Экстремал шароитларда молекуляр азотни ўзлаштирувчи
цианобактерияларнинг биологик хусусиятлари..... 3

Кадирова Гулчехра Хакимовна

Биологические особенности азотфиксирующих цианобактерий
в экстремальных условиях..... 28

Kadirova Gulchekhra

Biological features of nitrogen fixing cyanobacteria in extreme conditions 52

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works..... 56

**МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ ВА ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc.27.06.2017.В.38.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

КАДИРОВА ГУЛЧЕХРА ХАКИМОВНА

**ЭКСТРЕМАЛ ШАРОИТЛАРДА МОЛЕКУЛЯР АЗОТНИ
ЎЗЛАШТИРУВЧИ ЦИАНОБАКТЕРИЯЛАРНИНГ БИОЛОГИК
ХУСУСИЯТЛАРИ**

03.00.04 – Микробиология ва вирусология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ БЎЙИЧА ФАН ДОКТОРИ (DSc)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2018

Фан доктори (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.1.DSc/В9 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Микробиология институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгаш веб-саҳифаси (www.microbio.uz) ҳамда «Ziynet» ахборот-таълим портали (www.ziynet.uz) манзилларига жойлаштирилган.

Илмий маслаҳатчи:

Гулямова Ташхан Гафуровна
биология фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Буриев Сулаймон
биология фанлари доктори

Зайнитдинова Людмила Ибрахимовна
биология фанлари доктори

Хўжамшукуров Нортожи Абдухолиқович
биология фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Ботаника институти

Диссертация ҳимояси Микробиология институти ва Ўзбекистон Миллий университети ҳузуридаги DSc.27.06.2017.B.38.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2018 йил «7» март соат 10-00 даги мажлисида бўлади (Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоҳур тумани, А Қодирий кўчаси 76-уй, Микробиология институти мажлислар зали. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс:(+99871) 241-92-71, e-mail: info@microbio.uz).

Диссертация билан Микробиология институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (6 рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоҳур тумани, А Қодирий кўчаси 76-уй, Микробиология институти маъмурий биноси, 3-қават, мажлислар зали. Тел.: (+99871) 241-92-28.

Диссертация автореферати 2018 йил «20» феврал тарқатилди.
(2018 йил «20» феврал 16 рақамли реестр баённомаси)

Т.Ф.Арипов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
раиси, б.ф.д., профессор, академик

С.М.Насметова

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.н., катта илмий ходим

А.Х.Вахабов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси в.б.,
б.ф.д., профессор

КИРИШ (фан доктори (DSc) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда унумдор тупроқли майдонлар хажмининг йилдан-йилга қисқариб бориши қишлоқ хўжалиги амалиётига тупроқ унумдорлиги ва экинлар ҳосилдорлигини оширувчи арзон ҳамда қулай интенсив-биологик усулларни жорий этишни тақозо этмоқда. Бу ўринда, қимматли биологик хусусиятларни ўзида жамлаган цианобактериялар тупроқда табиий азотнинг айланишида муҳим аҳамиятга эга бўлиб, уларни экстремал-шўрланган шароитларда тупроқ унумдорлигини яхшилаш тадбирларига жалб этиш қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқариш самарадорлигини оширишга имкон беради. Шу жиҳатдан, шўрланишга чидамли молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтезловчи цианобактерияларнинг маҳаллий штаммларини аниқлаш ва улар асосида экинлар ҳосилдорлигини оширувчи биопрепаратлар яратиш долзарб муаммолардан ҳисобланади.

Жаҳонда қишлоқ хўжалиги интенсификацияси турли микроорганизмлар асосида экстремал шароитларда ҳам тупроқ унумдорлигини оширувчи ва экинлар ҳосилдорлигини яхшиловчи инновацион-самарадор усулларни яратишга қаратилган. Сўнгги йиллардаги инновация тадқиқотлари шўрланишга чидамли, азотфиксацияловчи, фитогормонлар ишлаб чиқарувчи, тупроқ пестицидларини деструкцияловчи цианобактерияларни аниқлаш, самарали штаммларини танлаб олиш ва улар асосида биопрепаратлар яратишни заруриятини белгилаб бермоқда. Цианобактерияларни экстремал шароитлар, хусусан пестицидларнинг юқори концентрациялари, ўта шўрланган шароитларда ҳам молекуляр азотни ўзлаштириш, фитогормонлар синтезлаш ва тупроқ биоремедиациясининг самарадор амалга ошириш хусусиятлари цианобактерияларни фаол штаммларини ажратиб олиш ва биологик хусусиятларини аниқлашни талаб этади. Шунга кўра, кўпфункционал хусусиятларга эга бўлган, молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг маҳаллий штаммларини ажратиб олиш, экстремал шароитларда тупроқнинг биологик қайта тикланишидаги ўрнини баҳолаш ва тупроқ унумдорлигини оширишда цианобактерияларни қўллашнинг самарасини аниқлаш муҳим вазифалардан бири ҳисобланади.

Ўзбекистонда қишлоқ хўжалигини жадал ривожлантириш учун, жумладан, тупроқ унумдорлигини яхшилаш ва экинлардан олинадиган ҳосил ҳажми ҳамда сифатини оширишга алоҳида эътибор қаратилди. Бу борада, жумладан, молекуляр азотни ўзлаштирувчи ризобактериялар, фосфор-мобилловчи бактериялар ва эркин ҳолда яшовчи кўк-яшил сувўтлари асосида тупроқнинг кимёвий таркибини яхшиловчи, ўсимлик ўсиши ва ривожланишини стимулловчи ҳамда экинлар ҳосилдорлигини оширувчи экологик тоза биопрепаратлар яратиш ва уларни ишлаб чиқаришга жорий этиш борасида муҳим натижаларга эришилди. Шу билан бирга, шўрланган тупроқларнинг агрокимёвий таркибини яхшилаш, унумдорлигини ошириш ва шўрланган тупроқларда экинлардан юқори ҳосил олиш учун экстремал шароитларда молекуляр азотни ўзлаштирувчи маҳаллий

цианобактерияларнинг биологик хусусиятларини аниқлаш бўйича илмий асосланган натижалар талаб этилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида¹ «... қишлоқ хўжалиги ишлаб чиқаришига замонавий ресурс тежамкор агротехнологияларни кенг жорий этиш» вазифалари белгилаб берилган. Мазкур вазифаларни амалга оширишда, жумладан, цианобактериялар маҳаллий штаммларининг тоза культураларини ажратиб олиш, уларнинг шўрланишга чидамлилигини аниқлаш, шўрланиш ва оғир металлар билан ифлосланган шароитларда цианобактерияларнинг молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигини баҳолаш ва улар асосида биопрепаратлар яратиш муҳим масалалардан бири ҳисобланади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2015 йил 29-декабрдаги ПҚ-2460-сон «2016-2020 йилларда қишлоқ хўжалигини янада ислоҳ қилиш ва ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги, Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамасининг 2013 йил 27-майдаги 142-сон «2013-2017 йилларда Ўзбекистон Республикасида атроф-муҳит муҳофазаси бўйича ҳаракатлар дастури тўғрисида» ги қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига боғлиқлиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича халқаро илмий-тадқиқотлар шарҳи². Молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг экстремал шароитлардаги хусусиятларини аниқлашга йўналтирилган илмий изланишлар дунёнинг етакчи илмий марказлари ва олий таълим муассасалари, жумладан, Institute of Marine Science (АҚШ), Center for Environmental Biotechnology, University of Tennessee (АҚШ), University of Rostock (Германия), Institute of Chemistry (Бельгия), Centre for Sustainable Resource Science (Япония), Ben-Gurion University of the Negev (Исроил), Indian Agricultural Research Institute (Хиндистон), Фундаментал биология муаммолари институти (Россия), Москва давлат университети (Россия), Микробиология ва вирусология институти (Украина), ТИВ Микробиология ва вирусология институти (Қозоғистон), Микробиология институтида (Ўзбекистон) олиб борилмоқда.

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

² Диссертациянинг мавзуси бўйича илмий тадқиқотлар шарҳи <http://www.works.doclad.ru>, <http://www.dissercat.com>, <http://www.fundamental-research.ru>, www.iari.res.in, <http://www.riken.jp/en/researchs>, <http://www.webofscience.com>, <http://www.marine.auckland> ва бошқа манбалар асосида ишлаб чиқилган.

Молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг экстремал шароитларда биологик хусусиятларини аниқлашга оид жаҳонда олиб борилган тадқиқотлар натижасида қатор, жумладан, қуйидаги илмий натижалар олинган: пестицидларнинг юқори концентрациялари билан ифлосланган тупроқларнинг цианобактериялар билан биоремедиациясининг самарадор тизими ишлаб чиқилган (Center for Environmental Biotechnology, University of Tennessee, АҚШ); экстремал шароитларда тупроқларнинг унумдорлиги ва ўсимликлар ҳосилдорлиги цианобактериялар фаолияти натижасида оширилган (Indian Agricultural Research Institute, Хиндистон); цианобактерияларнинг шўрланиш стрессига акклиматизация механизмлари аниқланган (University of Rostock, Германия); цианобактерияларни ўстириш шароитлари оптималлаштирилган ва уларнинг экологик стрессларга мослашиш молекуляр механизмлари асосланган (Centre for Sustainable Resource Science, Япония).

Дунё амалиётида кимёвий ўғитларга муқобил биопрепаратлар ишлаб чиқиш ва олиш бўйича қатор, жумладан қуйидаги устувор йўналишларда тадқиқотлар олиб борилмоқда: молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва ўсимликларнинг ўсишини стимуляцияловчи цианобактерияларнинг фаол штаммларини ажратиб олиш, уларнинг экстремал температура, шўрланиш, муҳит рН нинг юқори ва паст кўрсаткичларига чидамли турларини аниқлаш, оғир металллар ва пестицидлар билан ифлосланиш шароитларига юқори толерантликга эга бўлган цианобактериялар асосидаги экологик тоза органик биопрепаратлари яратиш, фаол цианобактериялар асосида фитогормонлар ажратиб олиш.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Турли таксономик гуруҳларга мансуб бўлган цианобактерияларни ажратиб олиш ва идентификация қилиш [В.А. Whitton, 2012; Z. Shariatmadari et al., 2013; W. Zhang et al., 2014; Komárek, 2016; M. Albrecht et al., 2017], цианобактериялар асосида яратилган биопрепаратларнинг шоли ва буғдой ўсимлигининг ўсиши ва ривожланишига таъсирини аниқлаш [М.А. Кучкарова, 1980, P. Irisarri et al., 2007; N. Karthikeyan et al., 2009; S. Nayak et al., 2012; R. Prasanna et al., 2013; R.N. Padhy et al., 2016] бўйича маълумотлар мавжуд. Гетероцистли ва гетероцистлари бўлмаган цианобактерияларнинг молекуляр азотни ўзлаштириш қобилияти уларнинг асосий критерийси ҳисобланади, шу сабабли улар юқори ўсимликларни табиий азот билан таъминлайди ва тупроқни биологик азот билан бойитади [Е.М. Панкратова, 2006; R. Haselkorn, 2007; I. Luque and K. Forchhammer, 2008; H.S. Dey et al., 2010; H. Singh et al., 2013; F.M. Ghazal et al. 2013; A.A. Issa, 2014; J.S. Singh et al., 2016; J.Y. Shen et al., 2017].

Бундан ташқари, цианобактерияларнинг биологик фаол моддалар жумладан, органик кислоталар, фитогормонлар, полисахаридлар, ферментлар, витаминлар ва бошқ. синтез қилиши аниқланмоқда [Prasanna et al., 2010; N.S. Yokoya et al., 2010; P. Varalakshmi and P. Malliga, 2012; W.A. Stirk et al., 2013, 2014; F. Rossi and R. De Philippis, 2015; E. Žižková et al., 2017].

Цианобактериялар атроф-муҳитни ифлослантирувчи моддаларга (пестицидлар, нефт маҳсулотлари, оғир металллар) нисбатан юқори чидамлиликга эга [G. Forlani et al., 2008; A.A. Жубанова, 2013; H. Zhang et al., 2015; V. Kumar et al., 2016; S.J. Singh et al., 2016].

Шуни таъкидлаш лозимки, цианобактерияларнинг турли экологик стрессларга адаптацияси тўғрисидаги маълумотлар, шу жумладан осмопротектантларнинг синтез бўлиши ҳақида жуда кам маълумотлар мавжуд [M. Hagemann, 2013; L. Chen et al., 2014; N. Pade and M. Hagemann, 2015; N.M. Ghalab et al., 2016]. Молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг шўрланиш шароитида ғўза ўсимлигининг ҳосилдорлигига таъсири, ҳамда тузли стресс шароитларида хлорорганик бирикмаларнинг деструкцияси ва фитогормонлар синтез қилиши ҳақидаги маълумотлар деярли йўқ. Шунга кўра, Ўзбекистонда экстремал – шўрланиш, пестицидлар билан ифлосланиш шароитларда фаол цианобактерияларни ажратиб олиш, маҳаллий штаммларни ўстириш шароитларини оптимизациялаш, цианобактерияларнинг шўрланишга чидамлилигини, баъзи бир осморегуляция хусусиятларини аниқлаш ва улар асосида биопрепарат яратиш муҳим илмий-амалий аҳамият касб этади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Микробиология институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг 5-Ф «Экологик тоза бактериологик ўғит олиш мақсадида қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг (ғўза, буғдой, соя ва б.) илдиз тизимидан ажратиб олинган молекуляр азотни ўзлаштирувчи бактерияларнинг молекуляр-генетик хусусиятларини ўрганиш» (2000-2002), №11 904 «Молекуляр азотни фаол ўзлаштирувчи ва шўрланишга чидамли микроорганизмлар ёрдамида арид тупроқларнинг реструктуризацияси ва тупроқ унумдорлигини ошириш асослари» (2004-2005), А-7-064 «Шўрланган ва пестицидлар билан ифлосланган тупроқларда қишлоқ хўжалик ўсимликларининг ҳосилдорлигини ошириш учун азотни фаол ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтезловчи цианобактериялар асосида биопрепарат яратиш» (2006-2008), ФА-Ф6-Т328 «Биодизель олиш учун Ўзбекистоннинг юқори маҳсулдор липид ҳосил қилувчи микросувўтлари ва цианобактерияларини излаб топиш ва уларда ёғ биосинтези регуляцияси» (2012-2016) мавзуларидаги фундаментал ва амалий лойиҳалари доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади экстремал шароитларда кўпфункционал хусусиятларга эга бўлган молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактериялар маҳаллий штаммларининг тупроқни биологик қайта тикланишида ва унумдорлигини оширишда қўллаш истиқболини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари қуйидагилардан иборат:

цианобактериялар маҳаллий штаммларининг алгологик ва бактериологик тоза культураларини ажратиб олиш ва морфологик-културал ва 16S рРНК гени асосида уларнинг таксономик статусини аниқлаш, цианобактериялар маҳаллий штаммларини ўстириш шароитларини

оптимизациялаш;

цианобактерияларнинг шўрланишга чидамлилигини, осморегуляциянинг баъзи хусусиятларини, ҳамда шўрланиш шароитларида альдегидоксидаза (АО; ЕС 1.2.3.1) ва ксантиндегидрогеназа (КДГ; ЕС 1.2.1. 37) ферментларини тадқиқ этиш;

шўрланиш ва оғир металллар билан ифлосланган шароитларда цианобактерияларнинг молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигини аниқлаш, микровегетацион ва вегетацион тажрибаларда «цианобактерия-ўсимлик» ассоциациясини тахлил этиш;

шўрланиш шароитларида маҳаллий молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг фитостимуляцияловчи хусусиятларини, ҳамда ИСК синтезининг регуляциясини аниқлаш;

шўрланиш шароитларида маҳаллий молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг полихлорланган бифениллар ва γ -гексохлорциклогексаннинг деструкциялашини тадқиқот этиш;

молекуляр азотни фаол ўзлаштирувчи ва шўрланишга чидамли цианобактериялар асосидаги биопрепаратнинг лаборатория регламентини яратиш;

биопрепаратнинг ғўза ўсимлигига таъсирини ўрганиш учун саноат-дала тажрибаларини ўтказиш.

Тадқиқотнинг объекти тупроқ, ғўза ва буғдой ўсимликлари ризосферасидан ажратиб олинган цианобактерияларнинг маҳаллий штамлари, полихлорланган бифениллар (ПХБ) ва γ -гексохлорциклогексан (ГХЦГ, линдан), ғўзанинг «Бухоро-6» нави ва буғдойнинг «Унумдор буғдой» нави уруғлари ҳисобланади.

Тадқиқотнинг предмети Ўзбекистоннинг шўрланиш ва пестицидлар билан ифлосланган тупроқ шароитларида молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтез қилувчи цианобактерияларнинг биологик хусусиятлари; туз стрессига цианобактерия штамларининг осмопротектантлар ва фитогормонлар синтез қилиши туфайли адаптацияланишининг баъзи бир механизмлари; шўрланган шароитларда цианобактерияларнинг хлорорганик пестицидларни деструкциялаш фаоллиги; молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг ўсиши, ривожланиши ва ҳосилдорлигига таъсири ҳисобланади.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотларда микробиологик, биотехнологик, биокимёвий, молекуляр-генетик, филогенетик, агрокимёвий ва статистик усуллардан фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк бор шўрланган ва пестицидлар билан ифлосланган Ўзбекистоннинг суғориладиган майдонлари тупроқ ва ғўза, буғдой ризосфераси намуналаридан ажратилган цианобактерияларнинг кўп функционал хусусиятларга эга эканлиги аниқланиб, морфологик-културал ва молекуляр-генетик хусусиятлари асосида цианобактериялар маҳаллий штамларининг - *Nostoc puriniforme* 20, *Nostoc linckia* 4, *Nostoc calcicola* 25, *Nostoc muscorum*

14, *Anabaena variabilis* 18, *Anabaena variabilis* 21, *Gloeothece rupestris* 15, *Synechococcus cedrorum* 12 турларга мансублиги идентификацияланган;

биринчи марта цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари NaCl нинг юқори концентрацияларида (800 мМ) ўсиши, ривожланиши ва молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигини намоён қилиши асосланган;

шўрланишга чидамли фаол штаммларнинг тупроқга интродукцияланиши натижасида гумус, умумий азот, калий, аммиакли азот миқдорининг ошиши, умумий фосфор миқдорининг эса назоратга нисбатан камайиши аниқланган;

илк бор цианобактериялар хужайраларида тузли стрессга жавобан глицин ва пролин миқдорининг кескин ошиши ҳамда альдегидоксидаза ва ксантиндегидрогеназа ферментларининг битта формаси мавжудлиги исботланган;

цианобактериялар културал суюқлигининг ғўза уруғларини униб чиқиш энергияси, унувчанлиги ва ўсиш қувватини ҳамда буғдой пояси ва илдизини стимуляция қилиши аниқланган;

шўрланиш шароитида озика мухитининг таркибида L-триптофан мавжудлигидан қатъий назар цианобактерияларнинг индоллил-3-сирка кислотасини (ИСК) синтезлаши асосланган;

илк бор шўрланиш шароитида цианобактериялар маҳаллий штаммлари ва уларнинг ассоциацияси лндан ва полихлорланган бифенилларни стабил ва юқори суръатда деструкция қилиши исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтез қилувчи цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари *N. puriniforme* 20, *N. linckia* 4, *N. calcicola* 25, *N. muscorum* 14, *A. variabilis* 18, *A. variabilis* 21, *Gl. rupestris* 15, *S. cedrorum* 12 коллекцияси яратилган;

қишлоқ хўжалиги ўсимликлари поясининг ўсиши ва илдиз системасининг ривожланишини стимуляциялашда цианобактериялар маҳаллий штаммларини қўллаш имконияти асосланган;

цианобактериялар асосида “CYANO-UZ” биопрепарати лаборатория регламенти яратилган ва бунда биопрепаратнинг иқтисодий қулай ҳамда агроиқтисодий самарадор тури – микросувўтларининг суспензияси эканлиги аниқланган;

ғўза ўсимлигининг уруғларига ишлов бериш учун молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтез қилувчи цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари суспензиялари асосидаги биопрепаратнинг қўлланилиши натижасида хосилдорлик назорат вариантларга нисбатан ўртача хисобда 4 % ошиши аниқланган;

шўрланишга чидамли маҳаллий цианобактериялар асосидаги экологик безарар янги биопрепаратларни ишлаб чиқариш қишлоқ хўжалиги ўсимликларини етиштириш агробιοтехнологиясида истиқболли йўналиш эканлиги асосланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқот натижаларининг

ишончилиги экспериментал маълумотларни замонавий микробиологик, биокимёвий, физикавий ва молекуляр-генетик усуллари орқали олинганлиги ва уларни назарий маълумотларга мос келиши, натижаларга Стьюдент мезонлари ва Фишер дисперсион таҳлили (ANOVA) ёрдамида статистик ишлов берилганлиги, диссертация натижаларини етакчи хорижий журналларда чоп этилганлиги ҳамда амалиётга жорий этилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти шўрланган ва пестицидлар билан ифлосланган Ўзбекистоннинг суғориладиган майдонлари тупроқ намуналаридан ва ғўза, буғдой ўсимлигининг ризосферасидан молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтез қилувчи цианобактериялар маҳаллий штамmlарининг ажратиб олинганлиги ва идентификация қилинганлиги; натрий хлориднинг турли концентрацияларига цианобактерияларнинг чидамлилиги аниқланганлиги, молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигини намоён қилганлиги; култураларнинг индоллил-3-сирка кислотасини (ИСК) синтез қилганлиги, цианобактериялар хужайраларида шўрланиш стрессга жавобан глицин ва пролин микдорининг кескин ошганлиги; шўрланиш шароитида цианобактериялар маҳаллий штамmlари ва уларнинг ассоциацияси лндан ва полихлорланган бифенилларни стабил ва юқори суръатда деструкция қилиши исботланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти цианобактериялар асосидаги экологик тоза ва иқтисодий самарадор “CYANO-UZ” биопрепаратини яратиш, уларни экстремал шароитларда қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг маҳсулдорлигини оширишда қўллаш ҳамда биопрепаратнинг тупроқни «биологик азот» билан бойитиши ва пестицидларни деструкция қилишига ҳизмат қилиши билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Самарадор цианобактериялар *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 асосида экстремал шароитларда қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг ўсиши ва ривожланишини стимуляцияловчи биопрепарат олиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

шўрланган ва пестицидлар билан ифлосланган тупроқлардан ажратиб олинган цианобактерияларнинг молекуляр азотни ўзлаштирувчи фаол маҳаллий штамmlари М/Узб-КНР-03/15 “Диазотроф ризобактерияларнинг биомолекулаларини (поли-β-гидроксибутират ва экзополисахаридлар) қўллаш асосида ғўза ва буғдой ўсимликларининг шўрланишга ва қурғоқчиликка чидамлилигини ошириш” мавзусидаги лойиҳада қишлоқ хўжалиги экинларини стресс шароитларга чидамлилигини оширишда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фан ва технологиялар агентлигининг 2017 йил 14 ноябрдаги ФТА-03-11/1294-сон маълумот-номаси). Натижада стресс шароитларда цианобактерияларнинг фаол маҳаллий штамmlаридан экзополисахаридлар продуценти сифатида

фойдаланиш ғўза ва буғдойнинг шўрланиш ва курғоқчиликка чидамлилигини ошириш имконини берган;

шўрланишга чидамли фаол цианобактериялар асосида яратилган “CYANO-UZ” биопрепарати Қашқадарё, Бухоро ва Сурхондарё вилоятлари пахта ва буғдой майдонларига жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ ва сув хўжалиги вазирлигининг 2016 йил 7 декабрдаги 02/23-1266-сон маълумотномаси). Натижада ғўза ҳосилининг назорат вариантыга нисбатан гектарига ўртача 4,2 %, буғдой ҳосилдорлиги 4% га ошириш имконини берган;

“CYANO-UZ” биопрепарати Қашқадарё вилоятининг ўртача шўрланган фермер хўжаликлари далаларига тупроқнинг молекуляр азотни ўзлаштириш потенциални ошириш амалиётига жорий қилинган (Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ ва сув хўжалиги вазирлигининг 2016 йил 7 декабрдаги 02/23-1266-сон маълумотномаси). Натижада тупроқ таркибидаги биологик азот миқдорини 38% ошириш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 15 та халқаро ва 14 та республика илмий-амалий конференцияларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 47 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертацияларининг асосий илмий натижаларини чоп этиш учун тавсия этилган илмий нашрларда 14 та мақола, жумладан, 12 таси республикада 2 таси хорижий журналларда нашр қилинган.

Диссертациянинг ҳажми ва тузилиши. Диссертация таркиби кириш, саккизта боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ҳамда иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 193 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида мавзунинг долзарблиги ҳамда зарурияти асосланган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объект ва предметлари тавсифланган, тадқиқотларнинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мос келиши кўрсатилган, тадқиқотларнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиқ берилган, тадқиқот натижаларининг амалиётга жорий қилиниши, диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Цианобактериялар шўрланиш шароитларида - молекуляр азотни ўзлаштирувчи, физиологик фаол моддалар синтез қилувчи ва мураккаб органик бирикмаларни деструкцияловчилар**» деб номланган биринчи бобида атроф-муҳитнинг экстремал шароитларида цианобактерияларнинг мавжудлиги, ривожланиши ва тарқалиши бўйича маълумотларнинг замонавий ҳолати кенг таҳлил қилинган. Ҳозирги кунда

турғун кишлоқ хўжалигини юритиш учун агробιοтехнология соҳасида молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва фитогормонлар синтезловчи самарадор тупроқ цианобактериялари асосидаги биопрепаратларни қўллаш мақсадга мувофиқлиги кўрсатилган.

Диссертациянинг «Тадқиқотларнинг материал ва услублари» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларнинг услублари тавсифланган, ишда фойдаланилган микроорганизмлар, асбоблар, ускуналар, таҳлилнинг биологик ва физик-кимёвий услублари келтирилган.

Диссертациянинг «Цианобактерияларнинг маҳаллий штаммларини ажратиш ва идентификациялаш» деб номланган учинчи бобида шўрланган тупроқларнинг баъзи хусусиятларини ўрганиш, цианобактерияларнинг маҳаллий штаммларини ажратиб олиш ва уларнинг идентификацияси ва ўстириш шароитларининг оптимизацияси бўйича натижалар келтирилган.

Цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари Ўзбекистоннинг Наманган, Қашқадарё ва Сирдарё вилоятлари тупроқ намуналаридан ва шу регионларда ўсаётган ғўза ва буғдой ўсимлигининг ризосферасидан ажратиб олинди. Тадқиқ этилаётган тупроқлар мос равишда кам (0,15-0,3), ўртача (0,6-1,2 %) ва кучли шўрланган (1,2 % дан юқори) тупроқлар эканлиги классификацияланди. Кам шўрланган тупроқларнинг молекуляр азотни ўзлаштириш потенциал фаоллигининг максимал (658-855 C_2H_4 мкмоль/кг тупроқ/соат) бўлиши аниқланди.

Тадқиқотларнинг биринчи босқичида йиғма културалар намуналаридан 25 та алгологик ва бактериологик (аксеник) тоза цианобактерия штаммлари танлаб олинди. Юқори биомасса ҳосил қилувчи самарадор цианобактерия штаммларининг молекуляр азотни ўзлаштириши фаоллиги анча юқори бўлиши аниқланди, яъни 55,4 дан 81,8 нмоль C_2H_4 нмоль флакон/соат гача. Шундай қилиб, биомасса ҳосил қилиши ва молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигига кўра 8 та юқори самарадор цианобактерия штаммлари танлаб олинди.

Танлаб олинган sp.4, sp.14, sp.20 ва sp.25 цианобактерия штаммларининг морфологик-културал хусусиятларини ўрганиш натижасида, ушбу штаммларнинг *Hormogoniophyceae* синфига, *Nostocales* Elenk., тартибига, *Nostocaceae* оиласига ва *Nostoc* авлодига мансуб эканлиги аниқланди. Ёруғлик микроскопи ёрдамида *Nostoc* sp.4, *Nostoc* sp.14, *Nostoc* sp.20 ва *Nostoc* sp.25 штаммлари колониялари яхши шаклланганлигини, ипсимон эканлиги, шилимшиқ юмшоқ кобиқ билан қопланганлиги, кўк-яшил рангда бўлиши аниқланди.

Морфологик-културал хусусиятларига кўра *Nostoc* sp.4 штаммининг *N.linckia* 4 (Born.et. Flah.) турига мансуб эканлиги тасдиқланди (1а расм). *N.linckia* 4 трихомалари кучли буралган, оч кўк-яшил рангли, эни 3,5-4 мкм, гетероцисталари шарсимон, диаметри 5-6 мкм. Спораларининг эни 6-7 мкм ва узунлиги 7-8 мкм. *Nostoc* sp.14 штамми *N. muscorum* 14 (Ag.) турига киради (1б-расм). Трихомаларининг эни 3-4 мкм, гетероцисталари деярли шарсимон-овал, диаметри - 6-7 мкм. Спораларининг эни 4-7 мкм ва узунлиги

8-12 мкм. *Nostoc* sp. 25 штаммининг морфологик-културал хусусиятлари ушбу штаммининг *N. calcicola* 25 (Vreb). турига мансуб эканлигини кўрсатди (1в-расм). *N. calcicola* 25 трихомаларининг эни 3-4 мкм, гетероцисталари шарсимон-овал, диаметри 6-7 мкм. Спораларининг эни эса 4-7 мкм ва узунлиги 8-12 мкм. *Nostoc* sp.20 штамми трихомаларининг эни 4-6 мкм, гетероцисталари шарсимон, диаметри 6-7 мкм, спораларининг эни 9-10 мкм. Морфологик-културал хусусиятларига асосан *Nostoc* sp.20 штамми *N. puriniforme* 20 (Ag.) турига мансубдир (1г-расм).

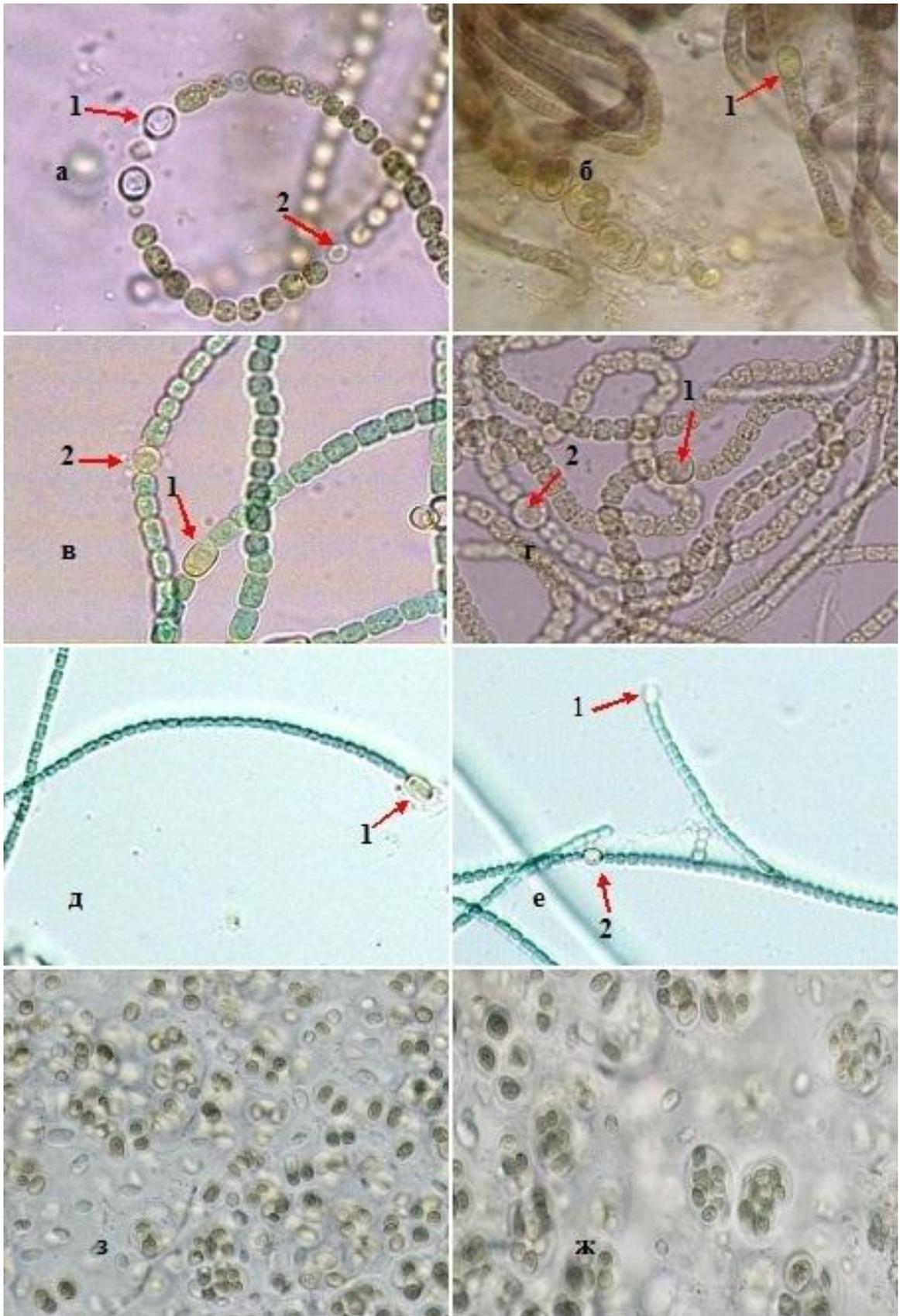
Морфологик-културал хусусиятларига кўра sp.18 ва sp.21 штаммлари *Anabaenaceae* оиласига, *Anabaena* авлодига мансуб эканлигини кўрсатди. *Anabaena* sp.18 ва *Anabaena* sp.21 штаммлари морфологик-културал хусусиятларига кўра *Anabaena variabilis* 18 (Kütz.) ва *Anabaena variabilis* 21 (Kütz.) турларига мансублиги аниқланди (1д,е-расм). *A. variabilis* 21 културасининг трихомаларининг эни - 5-6 мкм, узунлиги 3-6 мкм, гетероцисталари 6 дан 8 мкм эканлиги аниқланди. Спораларининг эни 8-9 мкм ва узунлиги 8-14 мкм (1е-расм).

Тадқиқот маълумотларига асосан sp.12 штамми *Chroococcophyceae* синфига, *Chroococcales* тартибига, *Synechococcaceae* оиласига ва *Synechococcus* авлодига мансуб эканлиги аниқланди. *S. cedrorum* 12 хужайралари эллипсоид шаклда, эни 3-4 мкм, узунлиги 5-10 мкм, биттадан ёки иккитадан, оч кўк- яшил рангда (1з-расм). Тадқиқотлар натижаларида sp.15 штаммининг *Gloeothese* авлоди вакили эканлиги аниқланди. *Gloeothese* sp.15 колониялари 4-8 та, камдан кам ҳолларда якка хужайралардан ташкил топган. Хужайралари асосан эллипсоидсимон, узунлиги 5-9 мкм, сиртки пардаси билан эни 8-15 мкм (1ж-расм).

Самарадор *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 маҳаллий штаммларининг таксономик статусини тасдиқлаш учун 16S рПНК гени асосида идентификация қилинди. *Anabaena variabilis* 21 штаммининг BLAST қиёсий таҳлили (Gene Bank), тадқиқот этилаётган 16S рПНК гени нуклеотидлар кетма-кетлигининг аниқ бўлган *Anabaena variabilis* (EF488831.1) штамми билан гомологияси 99% ни ташкил этди. Шу қаторда, *Anabaena variabilis* 21 штаммининг бошқа *Anabaena* турига мансуб бўлган штаммларга нисбатан гомологияси 93 дан 98% гача ташкил этади. *Nostoc calcicola* 25 штамми нуклеотидлар кетма-кетлигининг BLAST таҳлили *Nostoc calcicola* (AM711529) културасининг 16 S рПНК гени нуклеотидлар кетма-кетлиги билан юқори гомологияда (99%), *Nostoc calcicola* (HM 573461) културасига нисбатан нуклеотидлар кетма-кетлигининг гомологияси эса 98% ни ташкил этиши аниқланди.

Шундай қилиб, Ўзбекистоннинг шўрланган ва пестицидлар билан ифлосланган суғориладиган тупроқлари цианобактерия штаммларининг мавжудлиги бўйича тадқиқот этилди, ушбу тупроқларда: *Nostoc*, *Anabaena*, *Gloeothese*, *Synechococcus* авлодларига мансуб бўлган вакиллари ажратилди ва идентификацияси амалга оширилди.

Цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари 28°C температура, рН 7,5

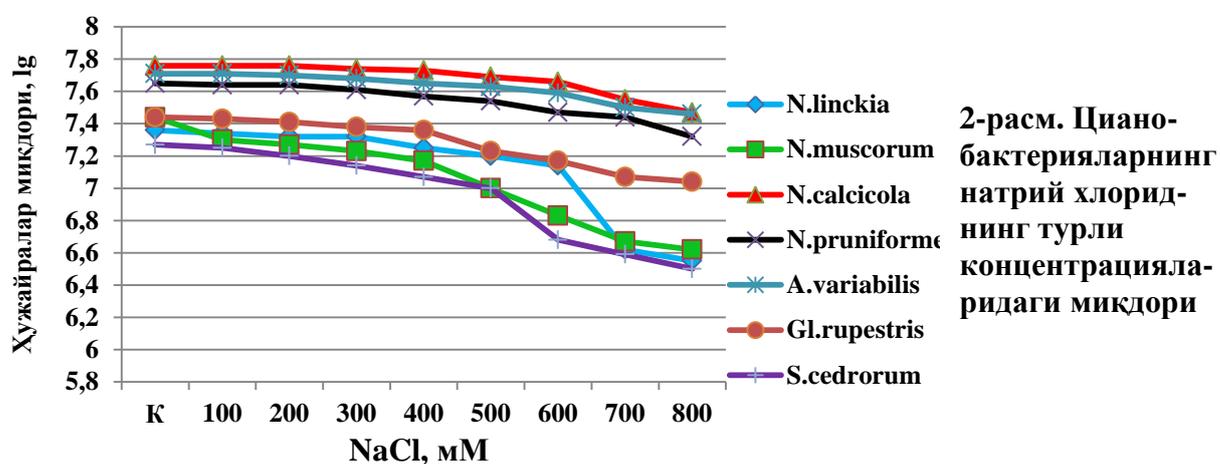


1-расм. Цианобактериялар хужайраларининг микроскопик кўриниши: а - *N.linckia* 4, б - *N.muscorum* 14, в - *N.calcicola* 25, г – *N.pruniforme* 20, д - *A.variabilis* 18, е - *A.variabilis* 21, з - *S. cedrorum* 12, ж - *Gl. rupestris* 15 (1-гетероцистлар, 2-акинеталар)

кўрсаткичида, 2500 - 3500 лк ёруғликда ва CO₂ нинг 2% концентрацияларида максимал биомасса ҳосил қилиши кўрсатилди.

Диссертациянинг «Шўрланиш стрессда цианобактериялар маҳаллий штаммларининг скрининги» деб номланган тўртинчи бобида шўрланиш шароитларида цианобактерияларнинг шўрланишга чидамлилиги, ва ушбу шароитларда шўрланишга чидамликнинг баъзи бир механизмлари: осмопротектантлар, АО ва КДГ синтез қилиши бўйича натижалар келтирилган.

Озиқа муҳити таркибида NaCl нинг 100 дан 800 мМ гача концентрациялари бўлган шароитларда *N. linkia* 4, *N.muscorum* 14, *N. pruniforme* 20, *N. calcicola* 25, *A. variabilis* 21, *Gl. rupestris* 15 ва *S. cedrorum* 12 штаммларини ўстириш, ушбу штаммларнинг натрий хлориднинг 800 мМ гача концентрацияларига деярли чидамли эканлигини кўрсатди (2-расм). Шунини қайд қилмоқ лозимки, *N.calcicola* 25 ва *A.variabilis* 21 култураларининг титри NaCl нинг 200 мМ гача концентрациясида деярли назорат варианты



даражасида қолади. *N. calcicola* 25 NaCl нинг 100 дан 500 мМ гача концентрацияларида кўп биомасса ҳосил қилади. Тузлар миқдорининг кўп бўлиши тупроқ ҳосилдорлигига, шу жумладан, гумус ҳосил бўлишига ва микроорганизмлар томонидан табиий азотнинг тўпланишига салбий таъсир кўрсатади. Бизнинг тадқиқотларимизда, яъни *N. calcicola* 25 фаол штаммининг тупроқга интродукцияланиши натижасида гумус миқдори 0,38% га, умумий азот -0,8% га, аммиакли азот – 0,003 мг/кг тупроқга, умумий калий – 0,1 мг/кг тупроқга ошиши, умумий фосфорнинг миқдори эса 0,02 мг/кг тупроқга камайиши аниқланди. Олинган натижалар сараланган цианобактерияларнинг маҳаллий штаммларини шўрланган тупроқларнинг унумдорлигини ошириш учун қўллаш истиқболи имкониятларини тасдиқлайди

Цианобактерияларнинг шўрланишга нисбатан чидамлилигининг физиологик механизмларидан бири, уларда осмопротектантлар сифатида баъзи бир аминокислоталарнинг тўпланиши билан боғлиқдир. *A. variabilis* 21 културасининг эркин аминокислоталари миқдorigа NaCl нинг 100 дан 300

мМ гача концентрациялари таъсири тадқиқ этилди. Шунинг қайд қилиш зарурки, натрий хлорид концентрациясининг 100 дан 300 мМ гача ортишида глицин и пролин миқдори кескин кўпаяди. Шу ўринда, NaCl нинг 100, 200 ва 300 мМ да глицин и пролиннинг миқдори мос равишда 121,8%; 230,9% ; 316,4% ва 157,1%; 312,2%; 428,6 % га ошди.

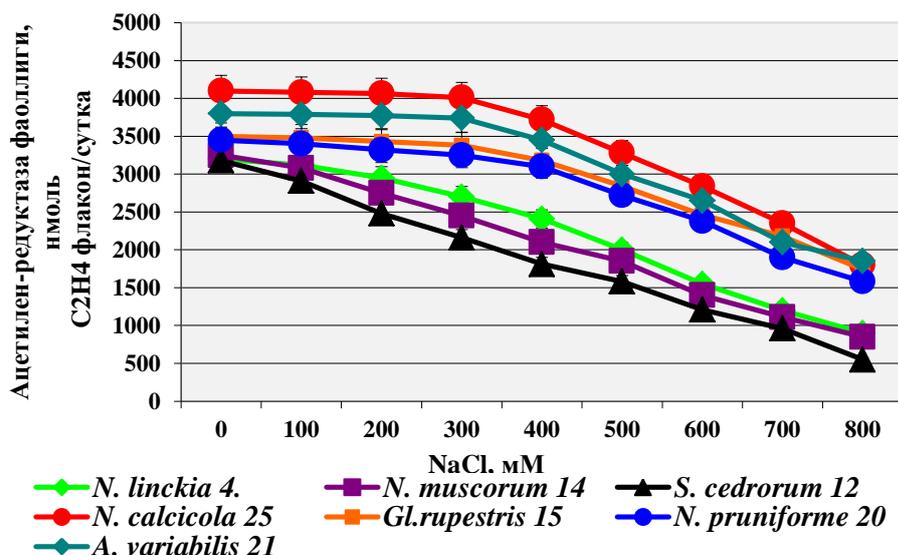
Кейинги тадқиқотларда туз стрессиди (300 мМ NaCl) *A. variabilis* 21 ва *N. calcicola* 25 цианобактерияларининг АО ва КДГ ферментлари ўрганилди. *N. calcicola* 25 хужайраларида АО нинг фақат битта формаси борлиги, шу қаторда АО фаоллиги ўстириш шароитига боғлиқ бўлмаган ҳолда қуйи бўлиши аниқланди. КДГ ни ўрганиш *A. variabilis* 21 хужайраларида, ҳамда *N. calcicola* 25 хужайраларида ҳам битта формаси борлиги аниқланди. Зимограммада КДГ фаоллигининг бўялиш интенсивлиги АО нинг фаоллигига нисбатан юқори эканлигини кўрсатди. КДГ фаоллиги NaCl нинг 300 мМ концентрациясида ўстирилган цианобактерия култураларида туз кўшилмаган муҳитда ўстирилган култураларга нисбатан юқори бўлди.

Диссертациянинг «**Цианобактериялар маҳаллий штаммларининг молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллиги**» деб номланган бешинчи бобида цианобактерияларнинг молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигига туз стрессининг, оғир металлларнинг таъсири, ҳамда «цианобактерия-ўсимлик» ассоциациясининг азотфиксация қилиш фаоллиги ўрганилган.

Цианобактериялар маҳаллий штаммларининг бошланғич молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллиги 3180 дан 4100 гача C_2H_2 нмоль/флакон/сутка ни ташкил этади. NaCl нинг 200 мМ гача шўрланиши култураларнинг азотфиксациялаш фаоллигига деярли таъсир этмаслиги, NaCl нинг 300 мМ концентрациясида эса *A. variabilis* 21, *N. calcicola* 25, *N. pruniforme* 20 ва *Gl. rupestris* 15 култураларининг молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллиги мос равишда 1,5%, 2,0%, 5,7% ва 3,4 % га камайиши аниқланди. Олинган тадқиқот натижалари шунинг кўрсатадики, ўстириш муҳитидаги NaCl концентрациясининг 800 мМ гача ошиши, умуман олганда *A. variabilis* 21 ва *N. calcicola* 25 нинг азотфиксацияловчи фаоллигини мос равишда 51,3% ва 56,0% га камайишига олиб келади (3-расм). Шундай қилиб, цианобактериялар маҳаллий штаммлари натрий хлориднинг юқори концентрацияларига (800 мМ гача) сезиларли чидамлик қобилятига эгадир.

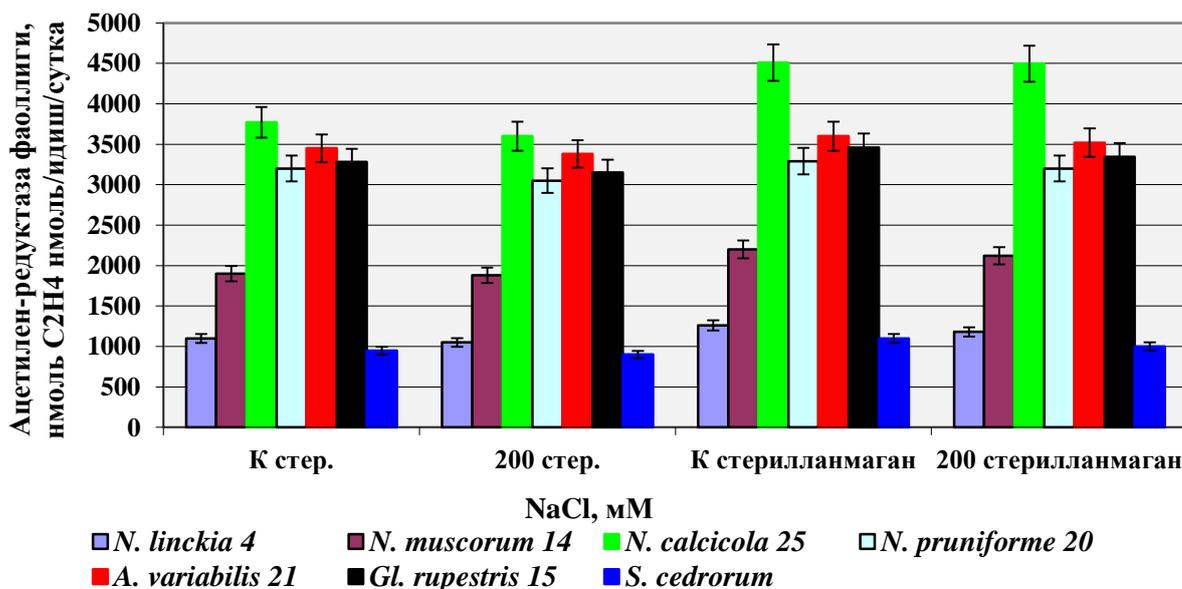
Cu^{+2} ва Co^{+2} оғир металлларнинг шўрланишга чидамли цианобактерияларни молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигига таъсирини ўрганиш давомида, Cu^{+2} нинг 10 ва 30 мМ концентрацияларида *A. variabilis* 21 молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигини култураларнинг бошланғич фаоллигига нисбатан мос равишда 90 % ва 80% ни ташкил этади. Шўрланишга чидамли *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 цианобактерияларининг азотфиксациялаш фаоллиги Co^{+2} нинг 10 ва 30 мМ концентрацияларида бошланғич фаоллигига нисбатан мос равишда 96%, 92,0% ва 82,5%, 69,0% ни ташкил этди. Олинган тадқиқот натижалари цианобактерияларнинг юқори мослашув потенциалига эга эканлигидан

далолат беради, ҳамда уларни оғир металллар билан ифлосланган тупроқларнинг биоремедиациясида қўллаш самарасини кўрсатади.



3-расм. Шўрланиш шароитида цианобактерияларнинг ацетилен-редуктаза фаоллиги (АРФ)

Стерил тупроқда NaCl нинг 200 мМ фонида ўтказилган микровегетацион тажрибаларда буғдой ўсимлигини *N. calcicola 25*, *A. variabilis 21* ва *Gl. rupestris 15* штаммлари билан инокуляциялаш натижасида «цианобактерия – ўсимлик» ассоциациясининг молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллиги мос равишда 3600, 3380 ва 3150 C₂H₂ нмоль /флаккон/сутка ни ташкил этди (4-расм), ушбу кўрсаткичларларнинг деярли назорат вариантларидаги даражада қолиши кузатилди. Эҳтимол, цианобактерияларнинг мўътадил шўрланиш (NaCl нинг 200 мМ гачаконцентрацияси) шароитида молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигини сақлаб қолиши уларнинг адаптацион жавобларидан бири бўлиши мумкин.



4-расм. NaCl нинг 200 мМ концентрацияларида ўтказилган микровегетацион тажрибаларда «цианобактерия + ўсимлик» ассоциациясининг азотфиксация фаоллиги

Стерил ва стерилланмаган тупроқларда NaCl нинг турли концентрацияларида ўтказилган вегетацион тажрибаларда цианобактерияларнинг бугдой ўсимлигининг «Унумдор бугдой» навини ўсиши, ривожланишига таъсирини ўрганиш натижасида, NaCl нинг 50-200 мМ концентрациялари ўсимликнинг ўсиши ва ривожланишини назорат вариантларга нисбатан (NaCl ва цианобактериялар қўшилмаган) стимуляциялаши аниқланди. Бугдойни NaCl нинг 50 мМ концентрациясида *N. calcicola* 25, *A. variabilis* 21 ва *Gl.rupestris* 15 инокуляциялаш, стерил ва стерилланмаган вариантларда бугдой биомассасини 8,8% дан 11,1 % га оширди (5-расм). Умуман олганда, ўсимликларни NaCl нинг 100 мМ фониди (бугдойнинг шўрланишига нисбатан шартли чегараси 85-100 мМ NaCl) стерил



1 2 3 4 5 6

5-расм. NaCl нинг 50 мМ фониди стерил тупроқларда ўтказилган микровегетацион тажрибаларда цианобактерияларнинг бугдой ўсимлигининг ўсиши ва ривожланишига таъсири: 1 - назорат (50 мМ NaCl), 2 - назорат (NaCl солинмаган), 3 - *Nostoc pruniforme* 20 + NaCl 50 мМ, 4 - *Gloeothece rupestris* 15 + NaCl 50 мМ, 5 - *Nostoc calcicola* 25 + NaCl 50 мМ, 6 - *Anabaena variabilis* 21 + NaCl 50 мМ

шароитларда ўстириш ўсимликлар биомассасининг бир оз камайишига олиб келади. Стерил ва стерилланмаган тупроқда NaCl нинг 100 мМ фониди *N. calcicola* 25 билан инокуляцияланган бугдой ўсимлигининг биомассаси, цианобактериялар билан инокуляцияланмаган ва NaCl қўшилмаган даражада қолди. Ўсимликларни шўрланишнинг 150 ва 200 мМ фониди ўстирилиши бугдой ўсимлиги биомассасининг 10% дан 22% гача камайишига олиб келди.

Диссертациянинг «Шўрланишга чидамли ва азотфиксацияловчи цианобактерия маҳаллий штамmlарининг фитогормонлар синтез қилиш фаоллиги» деб номланган олтинчи бобида шўрланиш шароитида цианобактерияларнинг фитостимуляциялаш хусусиятлари келтирилган. Шўрланишга чидамли цианобактериялар штамmlарининг ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини фитостимуляциялаш хусусиятларини ўрганиш шуни кўрсатдики, културал суюқликнинг 1:10 000 суюлтирилиши алоҳида олинган ғўза ўсимлиги уруғпалласининг вазнини 29–36% га стимуляциялай-

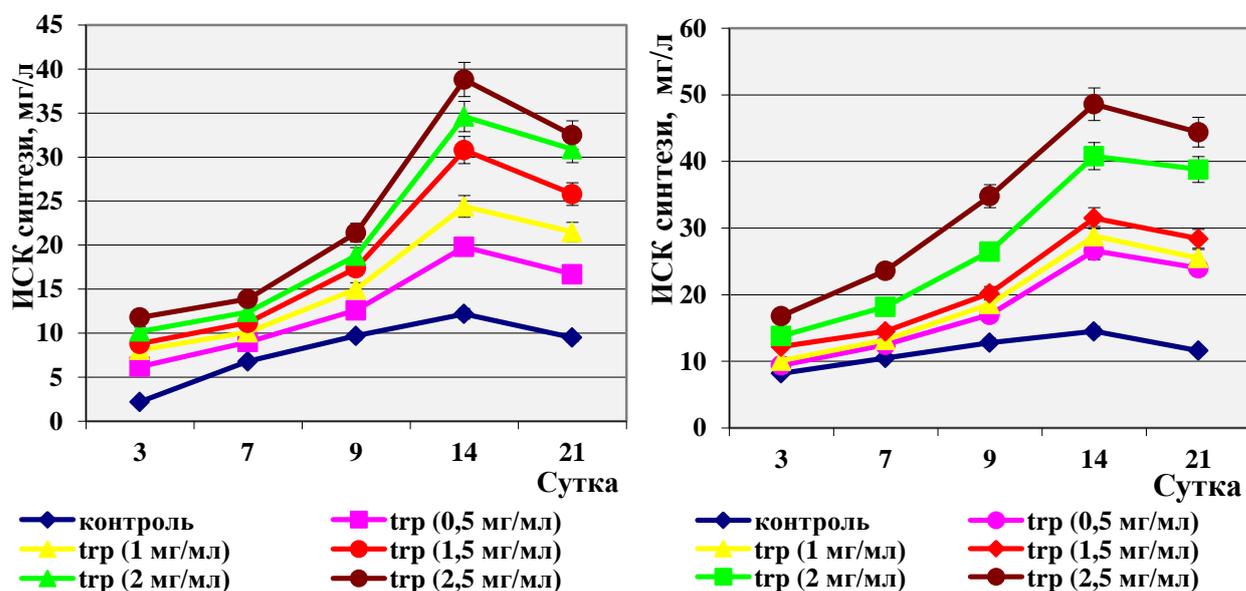
ди, 1:10 нисбатда суюлтирилиши эса 12-20% сусайтиради. Вегетацион тажрибаларда цианобактериялар културал суюқлигининг кичик концентрациялари, яъни 1:1000 суюлтирилиш даражаси назоратга нисбатан буғдой илдиз тизимини ва ер устки органларини мос равишда тахминан 3,0 ва 4,5 см га стимуляция қилди. *N.pruniforme* 20, *N.calcicola* 25, *A.variabilis* 21 ва *Gl.rupestris* 15 штаммларининг културал суюқлиги поя ва илдизнинг узунлигини мос равишда 22,7% ва 25%, 31,7% ва 36%, 22,1% ва 17,1%, 28,7% ва 32,8 % га кучайтирди. Шу билан бир қаторда *N.pruniforme* 20; *N.calcicola* 25; *A.variabilis* 21 ва *Gl. rupestris* 15 самарадор штаммларининг културал суюқлигини 1:10000 суюлтирилиши ғўза уруғларининг униб чиқиш энергиясини, унувчанлигини ва ўсиш қувватини 20% дан 50% гача кучайтириши аниқланди.

Демак, тадқиқотлар давомида ўрганилаётган цианобактериялар штаммларининг ғўза уруғининг униб чиқишини, буғдой ўсимлигининг илдиз тизими ва ер устки органларини стимуляция қилиши кўрсатилди.

Цианобактерияларнинг индоллил-3-сирка кислотасини (ИСК) синтезлаш даражасини ўрганиш, триптофаннинг турли 1, 3, ва 5 мг/мл концентрацияларида олиб борилди. Фаол цианобактериялар *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 штаммларини триптофан қўшилмаган озика мухитида 3 кун давомида (лаг фаза) ўстирилганда ИСК синтези мос равишда 10,20 ва 7,40 мг/л ни, 7 кун давомида эса - 19,0 ва 13,65 мг/л ни ташкил этди. *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 штаммларини триптофаннинг 1; 3 ва 5 мг/мл концентрацияларида 7 кун давомида (лог фаза) ўстирилганда ИСК синтези мос равишда 50,45; 97,5; 210 ва 30,45; 66,45; 110 мг/л кўрсаткичларига мос келди. Ўстириш озика мухитига триптофаннинг 5 мг/мл миқдорда қўшилиши *N. calcicola* 25 културасининг ИСК синтез қилишининг 11 мартага кучайиши кўрсатилди. Цианобактерияларни кейинги 14 кун давомида ўстириш (стационар фаза), умуман олганда, ИСК синтезини кучайишига олиб келади. *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 анча юқори ауксин синтез қилувчи фаолликга эга штаммлар эканлиги асосланди.

Тузли стресс шароитларида цианобактерияларнинг физиологик ҳолатларини аниқлаш учун NaCl нинг 300 мМ шўрланиш ва триптофаннинг турли концентрацияларини (0,5 мг/мл дан 2,5 гача) тутган озика мухитларида *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 штаммларининг ИСК синтез қилиш фаоллиги ўрганилди (6-расм а,б). *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 штаммларининг ИСК синтез қилиши туз қўшилганда ўстиришнинг 9 куни триптофаннинг концентрацияларига боғлиқ бўлмаган ҳолда кучайди (6-расм). *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 ларнинг максимал ИСК синтез қилиши ўстиришнинг 14чи куни кузатилди. *N. calcicola* 25 културасини триптофан 0,5 мг/мл ва 2,5 мг/мл бўлганда ИСК синтези мос равишда 26,6 ва 48,6 мг/л ни ташкил этади (6б-расм). Шунини таъкидлаш зарурки, *N. calcicola* 25 културасини триптофаннинг 2,5 мг/мл ва NaCl нинг 300 мМ шароитида 14 кун давомида ўстирилганда ИСК синтези назоратга нисбатан 3,3 марта кўп бўлди.

Ишнинг «Цианобактерия штамлари ёрдамида хлорорганик пестицидларнинг деградацияси» деб номланган еттинчи бобида цианобактерияларнинг полихлорланган бифениллар ва линданга нисбатан деструкция фаоллигини ўрганиш бўйича натижалар келтирилган.



6-расм. *Anabaena variabilis* 21 (а) ва *Nostoc calcicola* 25 (б) култураларининг муҳит таркибида триптофаннинг турли концентрациялари ва NaCl нинг 300 мМ бўлган шароитида ИСК синтез қилиши

Шўрланишга чидамли цианобактерияларнинг ПХБ ни углерод ва энергиянинг ягона манбаи сифатида фойдаланиши қобилияти бўйича скрининги ўтказилди. Цианобактерияларни 12 сут давомида ўстирилган културалар экстарктида ва супернатантда тритий билан нишонланган ПХБ нинг деструкцияси ва тритийнинг қолдиқ миқдори аниқланди. Тадқиқ эталаётган деярли барча штамларнинг ПХБ ни деструкциялаш фаоллигига эга эканлиги кузатилди. *N. pruniforme* 20, *A. variabilis* 21 ва *Gl. rupestris* 15 ларда ПХБ нинг қолдиқ радиофаоллиги назоратга нисбатан мос равишда 49,91%, 47,36% ва 51,19% ни ташкил этди. Демак, *N. pruniforme* 20, *A. variabilis* 21 ва *Gl. rupestris* 15 културалари ПХБ ни 48,81% дан 52,64% гача деструкциялайди (1- жадвал).

1- жадвал

Тритий билан нишонланган ПХБ нинг цианобактериялар ёрдамида деструкцияси

№	Културалар	Цианобактерия, радиофаоллик (100 мкл), имп/10 сек	Супернатант, радиофаоллик (100 мкл), имп/10 сек	Ялпи радиофаоллик (100 мкл), имп/10 сек
1	<i>N. pruniforme</i> 20	520	8 400	8 920
2	<i>N. calcicola</i> 25	1 596	10 776	12 372
3	<i>A. variabilis</i> 21	424	8 040	8 464
4	<i>Gl. rupestris</i> 15	748	8 400	9 148
5	Контроль		17 872	17 872

2- жадвалда умумлаштирилган маълумотлар, яъни 2 ва 4 ой давомида цианобактериялар маҳаллий штамлари интродукцияланган тупроқдаги тритий билан нишонланган ПХБ ни трансформация динамикаси

2-жадвал

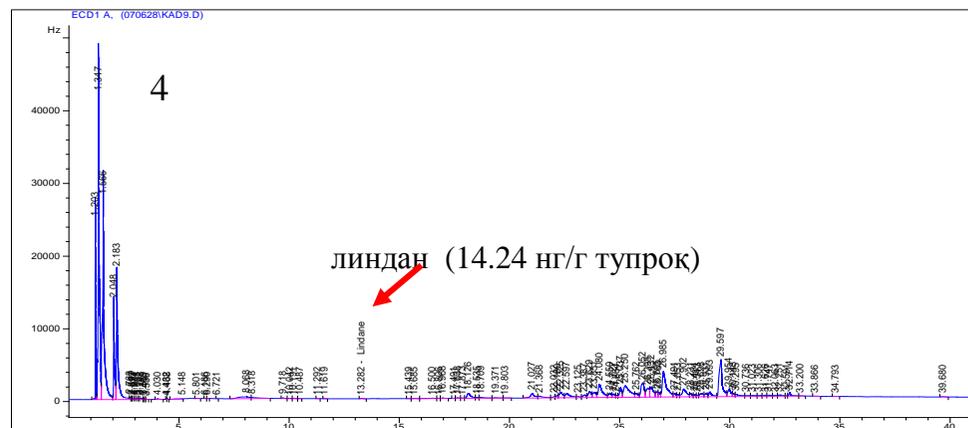
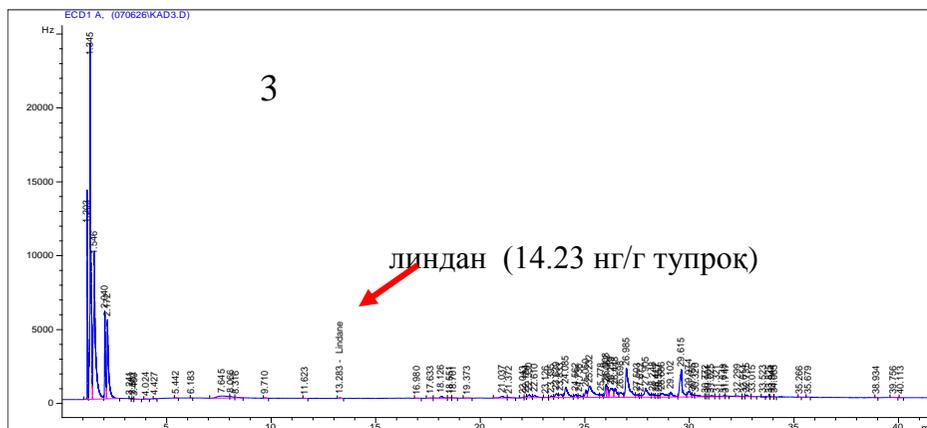
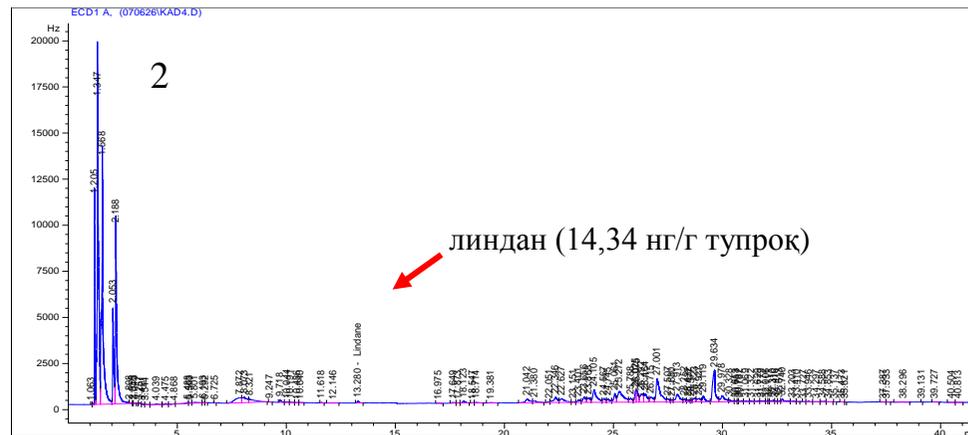
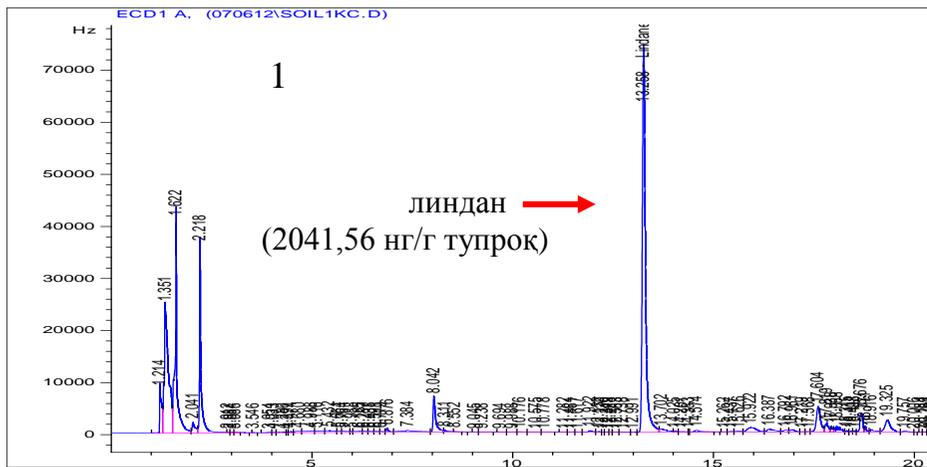
2 ва 4 ой давомида инкубация этилган тритий билан нишонланган цианобактериялар экстрактларини юпка қатламли селикогелдаги хроматографияси

Культура, (1) - старт, (2) - ПХБ, (3) - фронт	Радиофаол- лик, имп/10 сек	Ялли радиофаол- лик, имп/10 сек	Радиофаол- лик, имп/10 сек	Ялли радиофаол-лик, имп/10 сек
<i>N. pruniforme</i> 20 (1)	793	5 323	408	3 070
<i>N. pruniforme</i> 20 (2)	1 727		2 652	
<i>N. pruniforme</i> 20 (3)	2 803		10	
<i>N. calcicola</i> 25 (1)	1 626	6 995	180	2848
<i>N. calcicola</i> 25 (2)	1 688		2082	
<i>N. calcicola</i> 25 (3)	3 681		586	
<i>A. variabilis</i> 21 (1)	166	5734	1580	2387
<i>A. variabilis</i> 21(2)	5 518		573	
<i>A. variabilis</i> 21 (3)	50		234	
<i>Gl. rupestris</i> 15 (1)	1 676	5786	2 406	3 196
<i>Gl. rupestris</i> 15 (2)	1 755		216	
<i>Gl. rupestris</i> 15 (3)	2 355		574	
Контроль (1)	31	8 936	76	8 936
Контроль (2)	8 792		8 770	
Контроль (3)	113		90	

келтирилган. 2-жадвалга кўра *N. pruniforme* 20 културасини 2 ой инкубацияланиши давомидаги экстрактларда тритий нишонининг тақсимланишини юпка қатламли селикогелда хроматография этилганда тритий билан нишонланган ПХБ нинг қолдиқ радиофаоллиги 793 имп/10 сек (старт), 1 727 имп/10 сек (асосий ПХБ) ва 2 803 имп/10 сек (фронт) ни ташкил этиши аниқланди. Олинган натижалардан ушбу култура ПХБ ни назоратга нисбатан 40,43% га деструкция қилади деб хулоса қилишимиз мумкин. Цианобактерияларнинг тупроқдаги кейинги 4 ой давомидаги инкубацияси радиофаоллигининг юпка қатламли хроматографияси шуни кўрсатди, яъни тритий билан нишонланган ПХБ радиофаоллигининг стартдаги, асосий ПХБдаги ва фронтдаги 2 ой давомидаги инкубациясига нисбатан сезиларли камайиши аниқланди. Бинобарин, *N. pruniforme* 20 нинг ПХБ ни деструкциялаш фаоллиги 65,64% ни, *N. calcicola* 25 - 68,12% ва *A. variabilis* 21 - 73,28% ни ташкил этади. Шундай қилиб, цианобактериялар ПХБ ни деструкциялаш фаоллигининг аниқ миқдорий тавсифи олинди ва уларнинг 4 ой давомида модел тупроқ шароитларида ПХБ ни юқори турғун деструкциялаш қобилиятига эга эканлиги аниқланди.

Шўрланишга чидамли цианобактерияларнинг яна бир асосий биологик хусусиятларидан бири тупроқнинг шўрланиш шароитларида линданни биодеструкциялаш қобилияти хисобланади. Шундан келиб чиққан холда, кейинги тадқиқотларимизда цианобактериялар маҳаллий штаммларини натрий хлориднинг 4% ли концентрациясида линдан пестицидини деструкциялаш хусусиятлари ўрганилди. Тадқиқот этилаётган цианобактерия штаммлари ва уларнинг ассоциацияси 4 ой давомида шўрланиш шароитида линданни жуда юқори ва стабил деструкциялаш фаоллигини намойиш қилди. Демак, *N.calcicola* 25, *A.variabilis* 21 ва *N.pruniforme* 20 + *A. variabilis* 21 ассоциацияси модел тупроқ шароитида линданни фаол парчалайди, буни эса линданларнинг хроматограммаси тасдиқлайди (7-расм), қолдиқ линданнинг миқдори эса 14 нг/г тупроқни ташкил этади. Шуни қайд қилмоқ лозимки, шўрланиш шароитида линданнинг миқдори 2 мкг/г тупроқдан 14 нг/г тупроқгача камайди, бу эса қўшилган линданнинг 0,7% ташкил этади, яъни цианобактериялар линданни назоратга нисбатан 99,3 % га деструкциялайди. Олинган тадқиқотларнинг натижалари шўрланиш шароитида (4% NaCl) ўрганилаётган цианобактерияларнинг деярли барча штаммлари ва уларнинг ассоциацияси линданни юқори самарали деструкциялайди деб хулоса қилишга имконият туғдиради. Шу билан бир қаторда ушбу шароитларда цианобактерияларнинг яшовчанлиги ҳам таҳлил этилди. 4 ой давомида 2 мкг/г тупроқ миқдордаги линдан ва NaCl нинг 4% ли бўлиши цианобактерияларнинг ўсиши ва ривожланишига сезиларли таъсир этади. Демак, 4 ой инкубацияланишидан сўнг *A.variabilis* 21, *N.pruniforme* 20 ва *Gl. rupestris* 15 хужайралар титри икки тартибга камайиши кузатилди. Эксперимент якунида *N. calcicola* 25 хужайралар миқдори бошланғич миқдорга нисбатан фақатгина битта тартибга камайиши кузатилди. Цианобактериялар ассоциациясининг *N. pruniforme* 20 + *A. variabilis* 21 бошланғич титри $3.8 \cdot 10^7$ хуж/мл ни ташкил этган бўлса, эксперимент якунида эса $1.4 \cdot 10^5$ хуж/мл ни ташкил этди. Модомики, ушбу экспериментларда линдан цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари ёрдамида деярли бутунлай парчаланишини хисобга олсак, ГХЦГ културалар учун ягона углерод манбаи бўлиб хизмат қилиши мумкин деб тахмин қилиш мумкин.

Диссертациянинг «Саноат-дала тажрибаларида *Anabaena variabilis* 21 ва *Noctoc calcicola* 25 цианобактериялар маҳаллий штаммлари самарадорлигининг баҳоси» деб номланган саккизинчи бобида цианобактериялар маҳаллий штаммлари *A. variabilis* 21 ва *N. calcicola* 25 нинг саноат-синов дала тажрибаларидаги самарадорлигига баҳо берилган. *A.variabilis* 21 ва *N. calcicola* 25 цианобактериялари самарадор штаммлари асосида яратилган “CYANO-UZ” биопрепаратининг саноат синовлари Қашқадарё вилояти Чироқчи туманидаги фермерлик хўжалигининг 1 га майдонида ўтказилди ва ғўза ўсимлигидан 4 % қўшимча хосил олишга эришилди. Цианобактериялар билан ишлов берилган ғўза ўсимлигининг бутун вегетация давридаги ўсимликнинг ривожланиши давомида фенологик

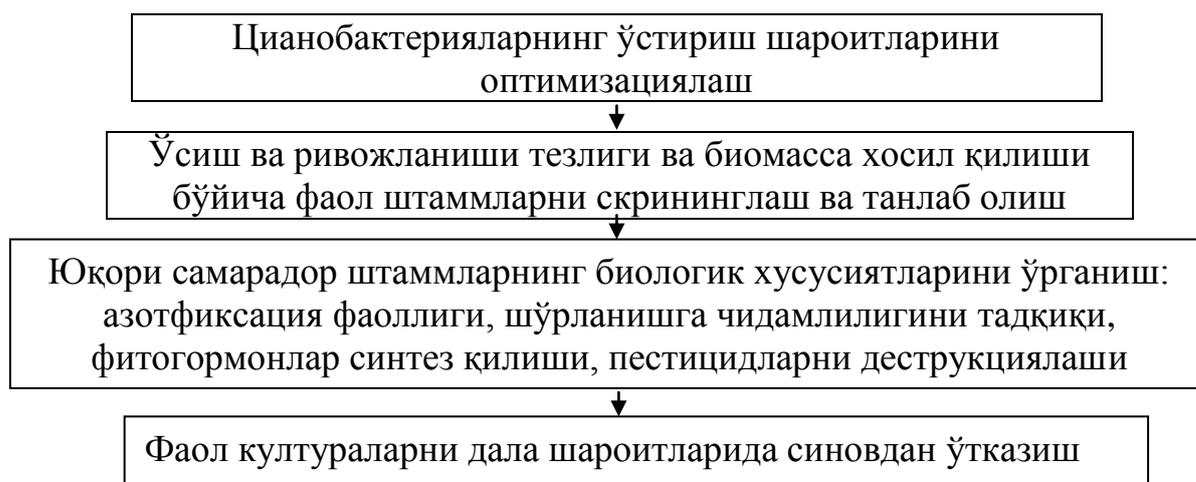


7-расм. Тупроқда 4 ой давомидан инкубацияланган гексанли экстрактларнинг хроматограммаси: 1- тупроқнинг назорат намунаси, 2- *Nostoc calcicola* 25 билан тупроқ намунаси, 3 - *Anabaena variabilis* 21 билан тупроқ намунаси, 4 - *Nostoc pruniforme* 20 + *Anabaena variabilis* 21 билан тупроқ намунаси.

кузатишлар олиб борилди. «5-6 хақиқий барглар» фазасида назорат вариантыда (НРК) барглар хосил бўлган бўлса, тажриба вариантыда эса биринчи шоналар хосил бўлиши кузатилди. Ўсимликларнинг гуллаш даврида назорат вариантыда гуллар пайдо бўлган бўлса, тажрибада биринчи кўсаклархосил бўлиши кузатилди. Хосил бериш фазаси даврида тажриба даласида кўсаклар ривожланишининг тезлашиши, ҳамда битта ўсимликдаги кўсаклар сонининг назоратга нисбатан 2-3 донага кўпроқ бўлиши кузатилди. Ғўза ўсимлигининг ялпи етилиши даврида ҳар бир вариантда кўсакларнинг ўртача вазни ўлчанди. Тажриба вариантыдаги кўсакларнинг ўртача вазни назоратга нисбатан 0,75-0,80 гр ортиқроқ бўлиши аниқланди.

Шу билан бирга, «CYANO-Uz» биопрепаратини тупроқга интродукцияланиши натижасида тупроқнинг потенциал азотфиксация фаоллигининг бошланғич фаолликга (350 мкмол/кг тупроқ/соат) нисбатан 38% га ошиши, яъни 485 мкмол/кг тупроқ/соат ташкил этиши аниқланган.

Диссертация иши доирасида бажарилган цианобактериялар маҳаллий штаммларининг фаол шакллари ажратиб олиш ва скрининг қилиш ва келгуси босқичларда уларни қишлоқ хўжалиги амалиётида синовлардан ўтказиш бўйича ўтказилган экспериментал тадқиқотларни қуйидаги схема кўринишида келтириш мумкин:



Шундай қилиб, бажарилган ишлар натижасида юқори самарадор молекуляр азотни ўзлаштирувчи ва шўрланишга чидамли, фитогормонлар синтез қилувчи, хлорорганик пестицидларни (ПХБ, ліндан) фаол деструкцияловчи *N. pruniforme* 20, *A. variabilis* 21, *Gl. rupestris* 15 ва *N. calcicola* 25 цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари танлаб олинди, ушбу култураларнинг шўрланиш ва пестицидлар билан ифлосланиш шароитларида қишлоқ хўжалиги ўсимликларининг ўсиши ва ривожланишини стимуляция этиши асосланди.

Олинган натижаларнинг мажмуида, тупроқнинг шўрланиш ва пестицидлар билан ифлосланиш шароитларида цианобактериялар маҳаллий штаммларининг асосий биологик хусусиятлари қуйидагилар ҳисобланади: молекуляр азотни фаол ўзлаштириш қобилияти, шўрланишга чидамлилиги

(100 дан 1 М гача), фитогормонлар синтез қилиш фаоллиги, хлорорганик пестицидларни стабил ва юқори даражада деструкциялаш фаоллигидир.

ХУЛОСАЛАР

«Экстремал шароитларда молекуляр азотни ўзлаштирувчи цианобактерияларнинг биологик хусусиятлари» мавзусидаги докторлик диссертация иши бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйидаги хулосалар тақдим этилди:

1. Илк бор Ўзбекистоннинг Наманган, Қашқадарё и Сирдарё вилоятларининг турли шўрланиш даражасида ва пестицидлар билан ифлосланган суғориладиган тупроқ ва ўсимликлар ризосферасидан морфологик-културал хусусиятлари ва 16S рРНК гени таҳлил қилиш асосида цианобактерияларнинг алгологик ва бактериологик тоза маҳаллий штаммлари – *Nostoc puriniforme* 20, *Nostoc linckia* 4, *Nostoc calcicola* 25, *Nostoc muscorum* 14, *Anabaena variabilis* 18, *Anabaena variabilis* 21, *Gloeotheca rupestris* 15, *Synechococcus cedrorum* 12 ажратиб олинди.

2. Цианобактериялар маҳаллий штаммларини BG-11₀ озиқа муҳитида ўстирилишининг оптимал шароитлари: температура – 28-30°C, CO₂ – 2%, ёруғлик – 3000 лк ва рН кўрсаткичи – 7,5 ташкил этади. Бу эса култураларнинг биомасса ҳосил қилиши ва молекуляр азотни ўзлаштириш фаоллигинининг кучайишига имкон беради.

3. Фаол цианобактерияларнинг маҳаллий штаммлари натрий хлориднинг юқори концентрацияларига сезиларли чидамлилиги (800 мМ) улар хужайраларида глицин ва пролин миқдорининг ошиши ҳамда альдегидоксидаза ва ксантиндегидрогеназининг биттадан формаси борлиги билан изоҳланади.

4. Натрий хлориднинг 200 мМ концентрацияси култураларнинг азотфиксация фаоллигига деярли таъсир этмаслиги, 800 мМ да эса цианобактериялар азотфиксация фаоллигини сезиларли даражада сақлаб қолишига олиб келади. Шўрланишга чидамли фаол штаммларнинг тупроққа интродукцияланиши натижасида гумус миқдори назоратга нисбатан 0,38%, умумий азот – 0,8%, аммиакли азот – 0,003 мг/кг тупроқ, умумий калий – 0,1 мг/кг тупроқ ошиши, умумий фосфор миқдорининг эса 0,02 мг/кг тупроқ камайиши қайд этилади. Бу эса шўрланиш шароитларида тупроқнинг кимёвий таркибини яхшиланиши ва унумдорлигини ошиши билан изоҳланади.

5. *N.pruniforme* 20, *N.calcicola* 25, *A.variabilis* 21 ва *Gl.rupestris* 15 цианобактериялари ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини стимуляциялаши аниқланди. Бу маҳаллий штаммларининг културал суюқлиги билан ишлов берилганда ғўза уруғларининг униб чиқиш энергияси, унувчанли, ўсиш қуввати ҳамда буғдой ер устки ва илдиз тизимига ижобий

таъсир этиши билан изоҳланади.

6. Цианобактериялар маҳаллий штаммларининг стимуляциялаш таъсири уларнинг сезиларли даражада ИСК ишлаб чиқариши билан боғлиқдир. *N. calcicola* 25, *Gl. rupestris* 15 ва *A. variabilis* 21 култураларини 7 сутка давомида ИСК синтез қилиши 13,65 дан 19 мг/л гача ташкил этади. Озиқа муҳити таркибига 5 мг/мл миқдорда триптофаннинг қўшилиши эса цианобактерияларнинг ИСК синтез қилиш қобилятини 30,45 дан 110 мг/л гача оширади.

7. NaCl нинг 300 мМ шароитида *Nostoc calcicola* 25 ва *Anabaena variabilis* 21 културалари 12,2 дан 14,5 мг/л гача ИСК синтез қилади. Озиқа муҳитида триптофан концентрациясининг 2,5 мг/мл бўлиши ИСК ишлаб чиқишини 3 марта ошишига олиб келади. Бу эса култураларни шўрланиш шароитларида ғўза, буғдойларнинг ўсиши ва ривожланишини стимуляция қилиши учун қўллаш имконини беради.

8. Илк бор *N. pruniforme* 20, *N. calcicola* 25 ва *A. variabilis* 21 култураларининг полихлорланган бифенилларни фаол деструкциялаши аниқланди. Маҳаллий штаммларни пестицидлар билан ифлосланган тупроқларда фаол биодеструкторлар сифатида қўллаш учун тавсия этилади.

9. *Nostoc calcicola* 25, *N. pruniforme* 20, *Gl. rupestris* 15 ва *Anabaena variabilis* 21 културалари ва уларнинг ассоциацияси 4% ли шўрланиш шароитларида лінданни 99,3% га деструкциялаш фаоллигига эга. Фаол цианобактериялар штаммлари ва уларнинг ассоциацияларини юқори шўрланиш шароитларида ліндан билан ифлосланган тупроқлардаги лінданнинг миқдорини сезиларли даражада камайитириши учун тавсия этилади.

10. *Nostoc calcicola* 25 ва *Anabaena variabilis* 21 културалар асосида ўсимликларни ўсиш ва ривожланишини кучайтирувчи ва шўрланишга чидамлилигини оширувчи биологик ва иқтисодий самарадорликка эга “CYANO-UZ” биопрепарати яратилди. Комплекс биопрепарат шўрланган шароитларда экинлар ўсиши ва ривожланишини кучайтириш, ҳосилдорлигини ошириш, шўрланишга нисбатан чидамлилигини орттириш, шўрланган тупроқларнинг потенциал азотфиксация фаоллигини ва унумдорлигини ошириш ҳамда пестицидларни фаол деструкциялаш учун тавсия этилади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.27.06.2017.В.38.01 по ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ МИКРОБИОЛОГИИ И
НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ УЗБЕКИСТАНА
ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ**

КАДИРОВА ГУЛЧЕХРА ХАКИМОВНА

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ
ЦИАНОБАКТЕРИЙ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ**

03.00.04 – Микробиология и вирусология

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК (DSc)**

Ташкент – 2018

Тема диссертации доктора наук (DSc) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером B2017.1.DSc/B9.

Диссертация выполнена в Институте микробиологии.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета («www.microbio.uz») и на Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net.uz).

Научный консультант:

Гулямова Ташхан Гафуровна
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Буриев Сулаймон
доктор биологических наук, профессор

Зайнитдинова Людмила Ибрахимовна
доктор биологических наук

Хўжамшукуров Нортожи Абдухоликович
доктор биологических наук

Ведущая организация:

Институт ботаники

Защита диссертации состоится « 7 » марта 2018 г. в 10⁰⁰ часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.B.38.01 при Институте микробиологии и Национальном университете Узбекистана (адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтахурский район, ул. А.Кадырий 7б, конференц-зал Института микробиологии. Тел.: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98; факс: (+99871) 241-92-71, e-mail: info@microbio.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института микробиологии (зарегистрировано за № 6). Адрес: 100128, г.Ташкент, Шайхонтахурский район, ул. А.Кадырий 7б, административное здание Института микробиологии, 3-этаж, Тел.: (+99871) 241-92-28.

Автореферат диссертации разослан « 20 » февраля 2018 г.
(протокол рассылки № 16 от « 20 » февраля 2018 г.).

Т.Ф.Арипов

Председатель Научного совета по присуждению
ученой степени доктора наук, д.б.н., академик

С.М. Насметова

Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученой степени доктора наук, к.б.н., с.н.с.

А.Х.Вахабов

Председатель научного семинара при Научном совете
по присуждению ученой степени доктора наук,
д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире ежегодное сокращение количества площадей, пригодных для посевов сельскохозяйственных культур, требует внедрение интенсивных биологических методов, применение которых позволит повысить плодородие почв и снизить себестоимость сельскохозяйственной продукции. В связи с этим, цианобактерии, обладающие большим набором биологически-ценных свойств, играющие ключевую роль в глобальном цикле азота и поддержании устойчивой экосистемы в экстремальных условиях, могут быть вовлечены в сферу мероприятий по улучшению плодородия почв и повышению производительности сельскохозяйственной продукции. В связи с этим, выделение солеустойчивых активных азотфиксирующих и фитогормонпродуцирующих местных штаммов цианобактерий в экстремальных условиях, создание на их основе биопрепаратов, повышающих урожайность культур, является наиболее актуальной проблемой.

Во всем мире интенсификация сельского хозяйства в экстремальных условиях основывается на создании инновационно-эффективных методов улучшения плодородия почв и урожайности культур за счет использования различных микроорганизмов. В последние годы инновационные разработки определяют необходимость выделения активных штаммов цианобактерий – азотфиксаторов, продуцентов фитогормонов, деструкторов пестицидов в почве, скрининг эффективных штаммов, а также создания на их основе биопрепаратов. Это требует выделения активных штаммов цианобактерий, обладающих высокой азотфиксирующей активностью, способностью к продуцированию фитогормонов, эффективной биоремедиации почвы в экстремальных условиях, в частности, при высоких концентрациях пестицидов и сильном засолении, и выявление их биологических особенностей. В связи с этим, одной из важнейших задач является поиск и отбор местных штаммов солеустойчивых, азотфиксирующих цианобактерий, активных продуцентов фитогормонов, обладающих многофункциональными свойствами, оценка их роли в биовосстановлении почвы и определение эффективности их применения в повышении плодородия в экстремальных условиях.

В настоящее время в сфере развития сельского хозяйства особое внимание уделяется улучшению плодородия почв, повышению производительности культур и качества сельскохозяйственной продукции. В этом отношении достигнуты важные результаты по созданию и применению экологически чистых биопрепаратов на основе азотфиксирующих ризобактерий, фосформобилизующих бактерий и свободноживущих сине-зеленых водорослей, улучшающих химический состав почвы, стимулирующих рост, развитие и повышающих урожайность культур. В связи с этим, большую актуальность приобретает необходимость получения

научно подтвержденных данных по влиянию местных штаммов цианобактерий на плодородие почв, улучшение их агрохимического состава и получение высоких урожаев сельскохозяйственных культур в экстремальных условиях. В стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан одной из основополагающих задач является «...широкое привлечение в сельскохозяйственное производство современных ресурсосберегающих агротехнологий»¹. Исходя из поставленных задач, исследования по выделению чистых культур местных штаммов цианобактерий, определению их солеустойчивости, оценке азотфиксирующей активности цианобактерий в условиях загрязнения тяжелыми металлами и пестицидами, созданию на основе отобранных культур новых эффективных биопрепаратов имеют важное как научно-практическое, так и экологическое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в УП 4947 от 7 февраля 2017 года Президента Республики Узбекистан «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», в УП 2460 от 29 декабря 2015 года Президента Республики Узбекистан «О мерах по дальнейшему реформированию и развитию сельского хозяйства на период 2016-2020 годы», в приказе № 142 от 27 мая 2013 года Кабинета Министров Республики Узбекистан «О программе действий по охране окружающей среды Республики Узбекистан на 2013 - 2017 годы», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики Узбекистан. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологии республики V. Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды.

Обзор зарубежных научных исследований по теме диссертации². Научные исследования, направленные на определение особенностей азотфиксирующих цианобактерий в экстремальных условиях осуществляются в ведущих научных центрах и высших образовательных учреждениях мира, в том числе в Institute of Marine Science (США), Center for Environmental Biotechnology, University of Tennessee (США), University of Rostock (Германия), Institute of Chemistry (Белгия), Centre for Sustainable Resource Science (Япония), Ben-Gurion University of the Negev (Израиль), Indian Agricultural Research Institute (Индия), Институте фундаментальных проблем биологии РАН (Россия), МГУ (Россия), Институте микробиологии и вирусологии НАН (Украина), НИИ микробиологии и вирусологии

¹Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 УП 4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

²Обзор научных исследований по теме диссертации приведены на основе данных источников <http://www.works.doclad.ru>, <http://www.dissercat.com>, <http://www.fundamental-research.ru>, www.iari.res.in, <http://www.riken.jp/en/researchs>, <http://www.webofscience.com>, <http://www.marine.auckland> и др.

МОН (Казахстан), Институте микробиологии (Узбекистан).

В мировом масштабе в результате проведенных исследований по определению биологических особенностей азотфиксирующих цианобактерий в экстремальных условиях, получены ряд научных результатов, в том числе: разработана эффективная схема биоремедиации цианобактериями почв, загрязненных высокими концентрациями хлорированных пестицидов, (Center for Environmental Biotechnology, University of Tennessee, США); в экстремальных условиях повышено плодородие почв и урожайность растений благодаря деятельности цианобактерий (Indian Agricultural Research Institute, Индия); установлены механизмы акклиматизации цианобактерий к солевому стрессу (University of Rostock, Германия); оптимизированы условия культивирования и обоснованы молекулярные механизмы устойчивости цианобактерий к экологическим стрессам (Centre for Sustainable Resource Science, Япония).

В мире по разработке и получению биопрепаратов, альтернативных применяемым химическим удобрениям, по ряду приоритетных направлений проводится исследований, в том числе: выделение активных азотфиксирующих и стимулирующих рост и развитие растений штаммов цианобактерий; определение устойчивых видов цианобактерий к экстремальной температуре, засолению, засухе, высоким и низким значения рН; создание экологически чистых органических биопрепаратов на основе цианобактерий, обладающих высокой толерантностью к загрязнению тяжелыми металлами и пестицидами; получение на их основе фитогормонов.

Степень изученности проблемы. Выделение и идентификация различных таксономических групп азотфиксирующих цианобактерий [В.А. Whitton, 2012; Z. Shariatmadari et al., 2013; W. Zhang et al., 2014; Komárek, 2016; M. Albrecht et al., 2017], влияние биопрепаратов, созданных на основе цианобактерий, на рост и развитие, урожайность риса и пшеницы [М.А.Кучкарова, 1980; P.Irisarri et al., 2007; N. Karthikeyan et al., 2009; S.Nayak et al., 2012; R. Prasanna et al., 2013; R.N. Padhy et al., 2016]. Азотфиксирующая активность является основным критерием многих гетероцистных и некоторых негетероцистных цианобактерий, которые обеспечивают высшие растения естественным азотом и обогащают почву биологическим азотом [Е.М. Панкратова, 2006; R. Haselkorn, 2007; I. Luque and K. Forchhammer, 2008; H.S. Dey et al., 2010; H.Singh et al., 2013; A.A. Issa, 2014; J.S. Singh et al., 2016; J.Y. Shen et al., 2017].

Кроме того, изучается продуцирование цианобактериями биологически активных соединений таких как, органические кислоты, фитогормоны, полисахариды, ферменты, витамины и т.д. [R. Prasanna et al., 2010; N.S. Yokoya et al., 2010; P.Varalakshmi and P. Malliga, 2012; W.A. Stirk et al., 2013, 2014; F.Rossi and R.De Philippis, 2015; E. Žižková et al., 2017]. Цианобактерии обладают высокой устойчивостью по отношению к загрязняющим веществам окружающей среды (пестициды, нефтепродукты,

тяжелые металлы) [G. Forlani et al., 2008; А.А. Жубанова, 2013; Н. Zhang et al., 2015; В. Kumar et al., 2016; S.J. Singh et al., 2016].

Следует отметить, что имеется очень мало данных об адаптационных свойствах цианобактерий к различным экологическим стрессам, в том числе о продуцировании осмопротектантов [М. Hagemann, 2013; L. Chen et al., 2014; N. Pade and M. Hagemann, 2015; N.M. Ghalab et al., 2016]. Практически отсутствуют данные о влиянии азотфиксирующих цианобактерий на урожайность хлопчатника, произрастающего в условиях засоления, а также по деструкции хлорорганических соединений и синтезу фитогормонов штаммами цианобактерий при солевом стрессе. В связи с этим, выделение активных штаммов цианобактерий из экстремальных природных источников Узбекистана с высоким уровнем засоления, загрязнения пестицидами, оптимизация условий культивирования штаммов цианобактерий, определение их устойчивости к засолению, некоторых механизмов осморегуляции, создание биопрепарата на основе отобранных штаммов имеет важное научно – практическое значение.

Связь темы диссертации с планом научно-исследовательских работ научно-исследовательских учреждений, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ по фундаментальным и прикладному проектам 5Ф «Изучение молекулярно-генетических свойств азотфиксирующих бактерий выделенных из корневой системы сельскохозяйственных растений (хлопчатник, пшеница, соя и др.) с целью создания экологически чистых бактериальных удобрений» (2000-2002), №11 904 «Реструктуризация аридных почв и основы повышения плодородия с помощью активных азотфиксирующих и солеустойчивых микроорганизмов» (2004-2005), А-7-064 «Создание биопрепарата на основе активных азотфиксирующих и фитогормон-продуцирующих цианобактерий для повышения урожайности сельскохозяйственных растений на засоленных и загрязненных пестицидами почвах» (2006-2008), ФА-Ф6-Т328 «Поиск высокопродуктивных липид-продуцирующих микроводорослей и цианобактерий Узбекистана и регуляция биосинтеза масел для получения биодизеля» (2012-2016).

Целью исследования является определение перспектив применения местных штаммов солеустойчивых азотфиксирующих цианобактерий с многофункциональными свойствами в биовосстановлении и повышении плодородия почв в экстремальных условиях.

Задачи исследования:

выделить альгологически и бактериологически чистые культуры местных штаммов цианобактерий, определить их таксономический статус на основе морфолого-культуральных свойств и гена 16S рРНК, оптимизировать условия культивирования местных штаммов цианобактерий; исследовать солеустойчивость, особенности осморегуляции, а также ферменты альдегидоксидазу и ксантиндегидрогеназу цианобактерий в условиях засоления;

определить азотфиксирующую активность цианобактерий в условиях засоления и загрязнения тяжелыми металлами, исследовать ассоциацию «цианобактерия-растение» в микровегетационных опытах;

определить фитостимулирующие свойства местных азотфиксирующих цианобактерий в условиях засоления, а также регуляцию синтеза ИУК;

исследовать деструкцию полихлорированных бифенилов и γ -гексохлорциклогексана местными штаммами цианобактерий в условиях засоления;

создание биопрепарата на основе активных азотфиксирующих и солеустойчивых цианобактерий;

провести производственно-полевые испытания биоудобрений на хлопчатнике.

Объектом исследования являются местные штаммы цианобактерий, выделенные из почвенных и ризосферных образцов хлопчатника и пшеницы, полихлорированные бифенилы (ПХБ), гексохлорциклогексан (ГХЦГ, линдан), семена хлопчатника сорта «Бухара-6» и пшеницы сорта «Унумдор бугдой».

Предметом исследования являются определение биологических особенностей местных штаммов азотфиксирующих и фитогормон-продуцирующих цианобактерий, выделенных из засоленных и загрязненных почв Узбекистана; выявление некоторых механизмов адаптации штаммов цианобактерий к солевому стрессу; деструктивная активность цианобактерий по отношению к хлорорганическим пестицидам в условиях засоления; определение влияния азотфиксирующих цианобактерий на рост, развитие и урожайность сельскохозяйственных растений в условиях засоления.

Методы исследования. В исследовании были использованы микробиологические, биотехнологические, биохимические, молекулярно-генетические, филогенетические, агрохимические и статистические методы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые выявлена многофункциональность местных штаммов цианобактерий, выделенных из образцов засоленных и загрязненных пестицидами орошаемых почв Узбекистана и ризосферы хлопчатника, пшеницы, на основе изучения морфолого-культуральных и молекулярно-генетических характеристик идентифицирована видовая принадлежность местных штаммов цианобактерий - *Nostoc puriniforme* 20, *Nostoc linckia* 4, *Nostoc calcicola* 25, *Nostoc muscorum* 14, *Anabaena variabilis* 18, *Anabaena variabilis* 21, *Gloeotheca rupestris* 15, *Synechococcus cedrorum* 12;

впервые обоснована способность местных штаммов цианобактерий расти, развиваться и активно фиксировать молекулярный азот при высоких концентрациях NaCl (800 мМ);

установлено увеличение содержание гумуса, общего азота, калия, аммиачного азота и уменьшение содержание общего фосфора по отношению к контролю при интродукции в почву активных штаммов

цианобактерий;

впервые доказано резкое увеличение в клетках цианобактерий содержания глицина и пролина в ответ на солевой стресс, наличие одной формы ферментов альдегидоксидазы и ксантиндегидрогеназы;

выявлено стимулирующее влияние культуральной жидкости цианобактерий на энергию прорастания, всхожесть и силу роста семян хлопчатника, а также высоту стебля и длину корня пшеницы;

обосновано продуцирование индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) цианобактериями вне зависимости от присутствия в культуральной среде L-триптофана;

впервые доказана стабильная и высокая способность к деструкции линдана и полихлорированных бифенилов местными штаммами цианобактерий и их ассоциаций в условиях засоления.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

создана коллекция активных азотфиксирующих и фитогормон-продуцирующих местных штаммов цианобактерий *Nostoc puriniforme* 20, *Nostoc linckia* 4, *Nostoc calcicola* 25, *Nostoc muscorum* 14, *Anabaena variabilis* 18, *Anabaena variabilis* 21, *Gloeotheca rupestris* 15, *Synechococcus cedrorum* 12;

обоснована возможность использования местных штаммов цианобактерий для стимуляции развития корневой системы и роста надземной части сельскохозяйственных растений;

разработан лабораторный регламент биопрепарата “CYANO-UZ” на основе цианобактерий и установлено, что экономически оправданной и агрономически эффективной формой биопрепарата является суспензия микроводорослей;

выявлено увеличение урожая хлопка-сырца в среднем на 4 % по сравнению с контролем при замочке семян хлопчатника биопрепаратом на основе азотфиксирующих и фитогормон-продуцирующих штаммов цианобактерий;

обоснована разработка новых экологически безопасных биопрепаратов на основе местных солеустойчивых цианобактерий, которая может рассматриваться как перспективное направление в агробиотехнологии выращивания сельскохозяйственных культур.

Достоверность результатов исследований подтверждается тем, что экспериментальные данные получены с применением современных микробиологических, биохимических, физических и методов молекулярной биологии, статистическую обработку результатов производили при помощи критерия Стьюдента и дисперсионного анализа Фишера (ANOVA), а также опубликованностью результатов диссертации в ведущих зарубежных журналах и практическим внедрением результатов.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования. Теоретическая значимость результатов исследований определяется тем, что из засоленных и загрязненных пестицидами почв, а

также из ризосферы хлопчатника и пшеницы, произрастающих на орошаемых почвах Узбекистана выделены и идентифицированы местные штаммы азотфиксирующих и фитогормонпродуцирующих цианобактерий; установлена устойчивость местных штаммов цианобактерий к различным концентрациям хлорида натрия, определены их азотфиксирующая активность и продуцирование индолил-3-уксусной кислоты; выявлено резкое повышение в клетках цианобактерий содержания глицина и пролина в ответ на солевой стресс; доказана стабильная и высокая способность к деструкции линдана и полихлорированных бифенилов местными штаммами цианобактерий и их ассоциаций в условиях засоления.

Практическая значимость результатов исследования определяется созданием на основе местных штаммов цианобактерий экологически чистого и агрономически эффективного биопрепарата “CYANO-UZ”, использование которого в сельскохозяйственной практике приводит к увеличению производительности культур в экстремальных условиях, а также обогащению почвы «биологическим азотом» и деструкции пестицидов.

Внедрение результатов исследования. На основе научных результатов по созданию биопрепарата стимулирующее рост и развитие сельскохозяйственных растений в экстремальных условиях с использованием эффективных штаммов цианобактерий *N.caldicola* 25 и *A. variabilis* 21:

активные азотфиксирующие местные штаммы цианобактерий, выделенные из засоленных и загрязненных пестицидами почв, используется в проекте М/Узб-КНР-03/15 «Увеличение устойчивости растений хлопчатника и пшеницы к засолению и засухе с помощью биомолекул (поли-β-гидроксибутираты и экзополисахариды) diaзотрофных ризобактерий» для повышения устойчивости сельскохозяйственных культур к стрессовым условиям (Справка Агентства науки и технологии Республики Узбекистан № ФТА-03-11/1294 от 14 ноября 2017 года). В результате применения активных местных штаммов цианобактерий в качестве продуцентов экзополисахаридов усиливается устойчивость хлопчатника и пшеницы к засолению и засухе в стрессовых условиях;

биопрепарат “CYANO-UZ”, созданный на основе активных солеустойчивых цианобактерий, внедрен практику возделывания культур хлопчатника и пшеницы в Кашкадарьинской, Бухарской и Сурхандарьинской областях (Справка Министерства сельского и водного хозяйства Республики Узбекистан № 02/23-1266 от 07.12.2016 года). В результате использования биопрепарата прибавка урожая хлопчатника составила в среднем на 4,2%, а пшеницы - 4% по отношению к контролю;

биопрепарат “CYANO-UZ” внедрен в практику повышения азотфиксирующего потенциала средnezасоленных почв фермерских хозяйств Кашкадарьинской области (Справка Министерства сельского и водного хозяйства Республики Узбекистан № 02/23-1266 от 07.12.2016 года). В результате биологический азот почвы повышается на 38 %.

Апробация работы. Основные положения, изложенные в

диссертации, представлены и доложены на 15 международных и 14 республиканских научно-практических конференциях и конгрессах.

Опубликованность результатов. По теме диссертации опубликовано 47 научных работ. Из них 14 научных статей, в том числе 12 в республиканских и 2 в зарубежных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных результатов докторских диссертаций.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, восьми глав, заключения и списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 193 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенных исследований, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики. Излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения о структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Цианобактерии - активные азотфиксаторы, продуценты физиологически активных веществ и деструкторы сложных органических соединений в условиях засоления»** представлен широкий анализ современного состояния существования и распространения цианобактерий в окружающей среде в экстремальных условиях. Показано, что в настоящее время в агробиотехнологии для устойчивого сельского хозяйства целесообразно использование экологически чистых биопрепаратов на основе эффективных азотфиксирующих и фитогормонпродуцирующих почвенных цианобактерий.

Во второй главе диссертации **«Материалы и методы исследований»** описаны методы исследований, приведены использованные в работе микроорганизмы, приборы, оборудование, биологические и физико-химические методы анализа.

В третьей главе диссертации **«Выделение и идентификация местных штаммов цианобактерий»** приведены результаты по изучению некоторых свойств засоленных почв, выделение, идентификация и оптимизация условий культивирования местных штаммов цианобактерий.

Местные штаммы цианобактерий были выделены из почвенных образцов и ризосферы хлопчатника, произрастающих в Наманганской, Кашкадарьинской и Сырдарьинской областях Узбекистана. Изучаемые почвы были классифицированы как слабо (0,15-0,3), средне (0,6-1,2 %) и сильно - засоленные (свыше 1,2 %), соответственно. Максимальная потенциальная активность азотфиксации (658-855 C_2H_4 мкмоль/кг почвы/час)

установлена в слабозасоленных почвах.

На первом этапе исследований из образцов накопительных культур отобрано 25 альгологически и бактериологически (аксенически) чистых цианобактериальных штаммов. Показано, что наиболее продуктивные по биомассе культуры цианобактериальных штаммов обладают наибольшей азотфиксирующей активностью от 55,4 до 81,8 C_2H_4 нмоль флакон/час. Таким образом, по образованию биомассы и азотфиксирующей активности были отобраны 8 высокоэффективных цианобактериальных штаммов.

Изучение морфолого-культуральных свойств отобранных штаммов sp.4, sp.14, sp.20 и sp.25 показало, что они относятся к классу *Hormogoniophyceae*, порядку *Nostocales* Elenk., семейству *Nostocaceae*, роду *Nostoc*. При микроскопировании выявлено, что колонии культур рода *Nostoc* sp.4, *Nostoc* sp.14, *Nostoc* sp.20 и *Nostoc* sp.25 хорошо оформлены, имеют нитевидные формы, слизистые с мягкой оболочкой, внутри плотные, сине-зеленой окраски.

Установлено, что штамм *Nostoc* sp.4 по морфолого – культуральным свойствам относится к виду *N.linckia* 4 (Born.et. Flah.) (рис.1а). Трихомы *N.linckia* 4 сильно извитые, бледносине-зеленые, 3,5-4 мкм ширины, гетероцисты шаровидные, 5-6 мкм в диаметре. Споры 6-7 мкм ширины и 7-8 мкм длины. Штамм *Nostoc* sp.14 относится к виду *N. muscorum* 14 (Ag.) (рис.1б). Трихомы 3-4 мкм ширины, гетероцисты шаровидно-овальные, 6-7 мкм в диаметре. Споры 4-7 мкм ширины и 8-12 мкм длины. Изучение морфолого-культуральных признаков штамма *Nostoc* sp. 25 показало принадлежность данного штамма к виду *N. calcicola* 25 (Vreb). Трихомы 3-4 мкм ширины, гетероцисты почти шаровидно-овальные, 6-7 мкм в диаметре. Споры 4-7 мкм ширины и 8-12 мкм длины (рис.1в). У штамма *Nostoc* sp.20 трихомы 4-6 мкм ширины, гетероцисты шаровидные, 6 -7 мкм в диаметре, споры 10 мкм ширины. Штамм *Nostoc* sp.20 по морфолого-культуральным свойствам относится к виду *N. puriniforme* 20 (Ag.) (рис.1г).

По морфолого-культуральным свойствам штаммы sp.18 и sp.21 относятся к семейству *Anabaenaceae*, роду *Anabaena*. Установлено, что штаммы *Anabaena* sp.18 и *Anabaena* sp.21 по морфолого-культуральным свойствам относятся к виду *Anabaena variabilis* 18 (Kütz.) и *Anabaena variabilis* 21 (Kütz.) (рис.1д,е). Трихомы *A.variabilis* 21 - 5-6 мкм ширины, 3-6 мкм длины, гетероцисты от 6 до 8 мкм длины. Споры 8-9 мкм ширины и 8-14 мкм длины (рис.1е).

По нашим экспериментальным данным установлено, что штамм sp.12 относится к классу *Chroococcophyceae*, порядку *Chroococcales*, семейству *Synechococcaceae* и роду *Synechococcus*. Клетки *S. cedrorum* 12 эллипсоидные, 3-4 мкм ширины, 5-10 мкм длины, одиночные или по две, бледно сине-зеленые (рис.1з). При исследовании штамма sp.15 установлено, что данный штамм является представителем рода *Gloeothese*. *Gloeothese* sp.15 имеет колонии из 4-8, реже – клетки одиночные. Клетки преимущественно эллипсоидные, 5-9 мкм длины, с оболочками 8-15 мкм

ширины (рис.1ж).

Для подтверждения таксономического статуса местных эффективных штаммов цианобактерий *N.calcicola* 25 и *A.variabilis* 21, нами была проведена идентификация на основе 16S рРНК гена. Сравнительный BLAST анализ (Gene Bank) показал, что исследуемая нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК *Anabaena variabilis* 21 была на 99 % гомологична последовательности известного штамма *Anabaena variabilis* (EF488831.1). При этом, у *Anabaena variabilis* 21 гомология с другими видами рода *Anabaena* составляет от 93 до 98%. BLAST анализ нуклеотидной последовательности штамма *Nostoc calcicola* 25 показал, что самая высокая гомология (99%) нуклеотидной последовательности гена 16 S рРНК была с культурой *Nostoc calcicola* (AM711529), а с культурой *Nostoc calcicola* (HM 573461) гомология нуклеотидной последовательности гена 16 S рРНК составляет 98%.

Таким образом, впервые изучены засоленные и загрязненные пестицидами орошаемые почвы Узбекистана на присутствие цианобактерий, в которых были обнаружены и идентифицированы представители рода: *Nostoc*, *Anabaena*, *Gloeothese*, *Synechococcus*.

Показано, что местные штаммы цианобактерий максимально накапливают биомассу при температуре 28°C; pH 7,5; при освещении 2500 - 3500 лк и 2% концентрации CO₂.

В четвертой главе диссертации «Скрининг местных штаммов цианобактерий при солевом стрессе» представлены результаты по солеустойчивости, некоторым механизмам солеустойчивости цианобактерий: изучение синтеза осмопротектантов, альдегидоксидазы (АО; ЕС 1.2.3.1) и ксантиндегидрогеназы (КДГ; ЕС 1.2.1. 37) в условиях засоления.

Выращивание культур цианобактерий: *N. linkia* 4, *N.muscorum* 14, *N.pruniforme* 20, *N. calcicola* 25, *A. variabilis* 21, *Gl. rupestris* 15 и *S. cedrorum* 12 на среде содержащей концентрации от 100 до 800 мМ NaCl показало, что практически все исследуемые культуры цианобактерий устойчивы к концентрации хлорида натрия 800 мМ (рис.2). Следует отметить, что при 200 мМ NaCl титр клеток *N.calcicola* 25 и *A.variabilis* 21 остается на уровне контрольных вариантов. *N. calcicola* 25 образует обильную биомассу при концентрации NaCl от 100 и до 500 мМ. Высокое содержание солей отрицательно сказывается на плодородии почв, в частности при образовании гумуса и накоплении естественного азота микроорганизмами. В наших исследованиях установлено, что при интродукции в почву активного штамма *N.calcicola* 25 содержание гумуса увеличивается на 0,38 %, общего азота - на 0,8 %, аммиачного азота - на 0,003 мг/кг почвы, общего калия - на 0,1 мг/кг почвы, а содержание общего фосфора уменьшается на 0,02 мг/кг почвы по отношению к контролю. Полученные результаты, подтверждают за перспективность интродукции в почву отобранных местных штаммов цианобактерий для повышения плодородия засоленных почв.

Физиологические механизмы устойчивости цианобактерий к засолению

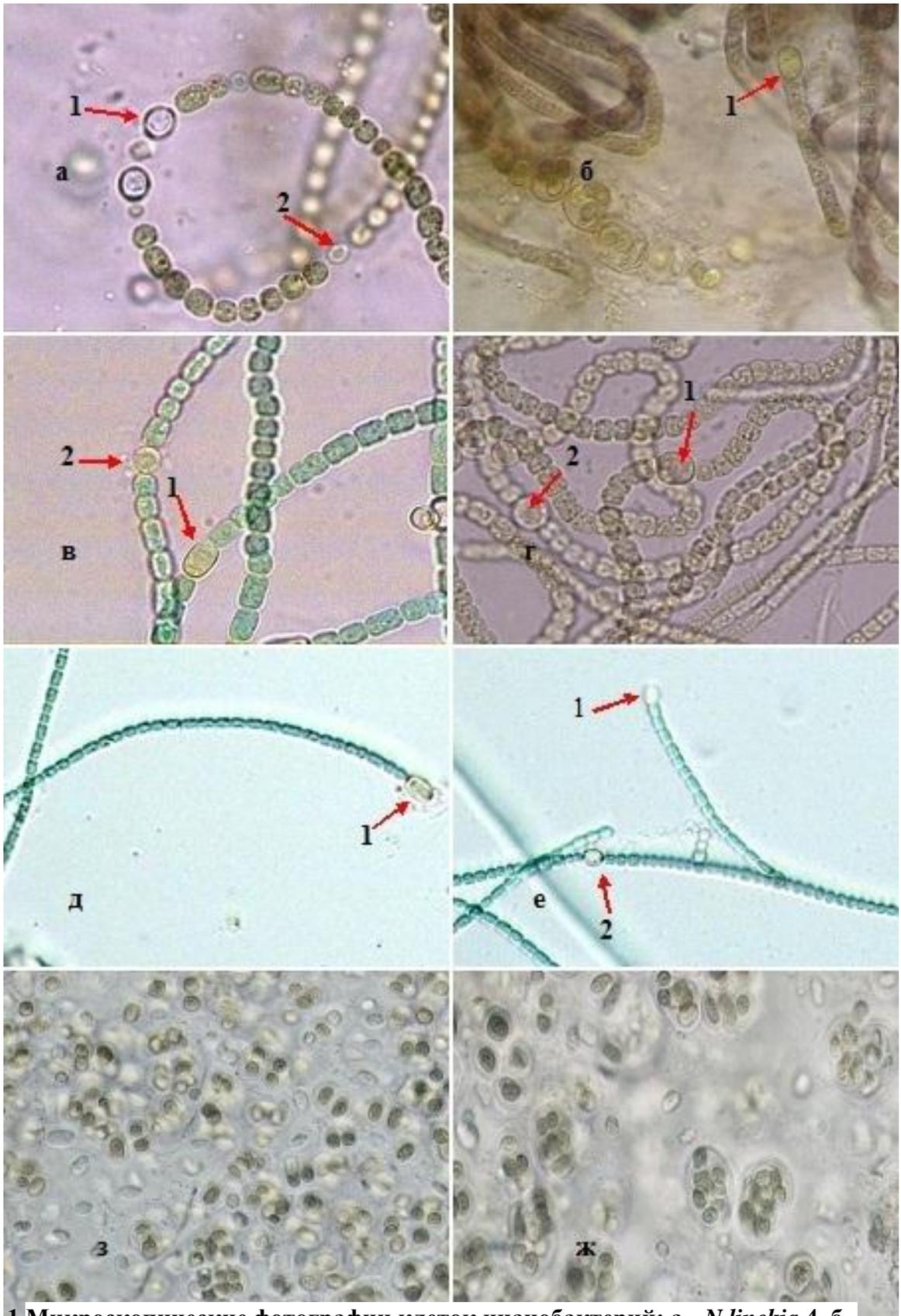


Рис.1.Микроскопические фотографии клеток цианобактерий: а - *N.linckia* 4, б - *N.muscorum* 14, в - *N.calcicola* 25, г – *N.pruniforme* 20, д - *A.variabilis* 18, е - *A.variabilis* 21, , з - *S. cedrorum* 12, ж - *Gl. rupestris* 15 (1-гетероцисты, 2-акинеты)

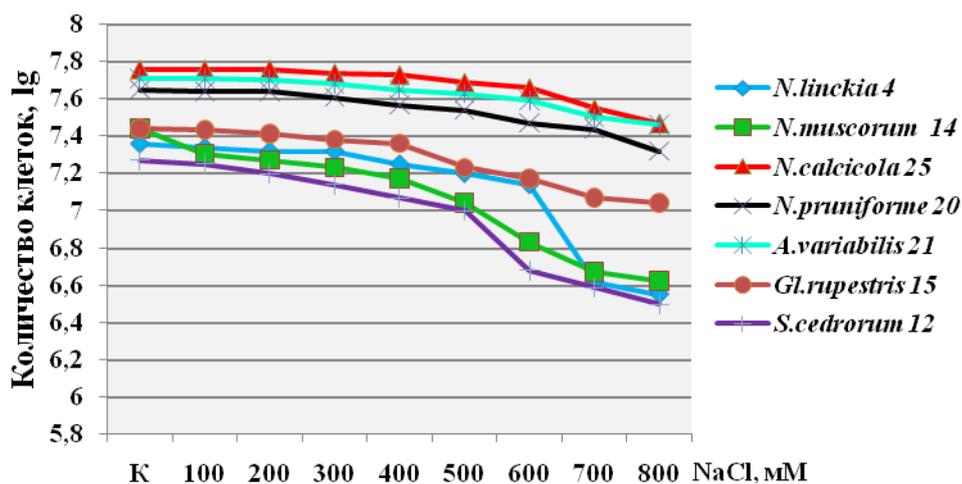


Рис.2. Количество клеток цианобактерий при различных концентрациях хлорида натрия

обуславливаются накоплением некоторых аминокислот в качестве осмопротектантов. Было изучено влияние концентраций NaCl от 100 до 300 мМ на содержание свободных аминокислот у *A. variabilis* 21. Следует отметить, что содержание глицина и пролина резко увеличивается с повышением концентрации хлорида натрия от 100 до 300 мМ. Так, при 100, 200 и 300 мМ NaCl количество глицина и пролина увеличивается на 121,8%, 230,9% и 316,4% и 157,1%, 312,2% и 428,6 %, соответственно.

Далее изучали АО и КДГ у цианобактерий *A. variabilis* 21 и *N. calcicola* 25, подвергнутых солевому стрессу (300 мМ NaCl). Обнаружено наличие одной формы фермента АО в клетках *N. calcicola* 25, при этом и активность АО была низкой вне зависимости от условий выращивания культур. При изучении КДГ установлено присутствие только одной формы фермента, как в клетках *A. variabilis* 21, так и в клетках *N. calcicola* 25. Интенсивность окраски активности КДГ изучаемых культур цианобактерий на зимограмме была выше по сравнению с активностью АО. Активность КДГ культур цианобактерий, выращенных в присутствии концентраций 300 мМ NaCl в среде, была выше, чем у культур, выращенных в среде без соли.

В пятой главе «Азотфиксирующая активность местных штаммов цианобактерий» изучено влияние солевого стресса, наличия тяжелых металлов на азотфиксирующую активность цианобактерий, а также азотфиксирующая активность ассоциации «цианобактерия-растение».

Исходная азотфиксирующая активность исследуемых местных штаммов цианобактерий составляет от 3180 до 4100 C_2H_2 нмоль/флакон/сутки. Установлено, что засоление до 200 мМ NaCl практически не влияет на азотфиксирующую активность культур, а при 300 мМ NaCl у штаммов *A. variabilis* 21, *N. calcicola* 25, *N. pruniforme* 20 и *Gl. rupestris* 15 она снижается на 1,5%, 2,0%, 5,7% и 3,4 %, соответственно. Экспериментальные данные указывают на то, что увеличение концентрации NaCl до 800 мМ в среде культивирования в целом приводит к снижению азотфиксирующей активности у *A. variabilis* 21 и *N. calcicola* 25 на 51,3%

и 56,0%, соответственно (рис.3).

Таким образом, местные штаммы цианобактерий обладают значительной устойчивостью к высоким (до 800 мМ) концентрациям хлорида натрия.

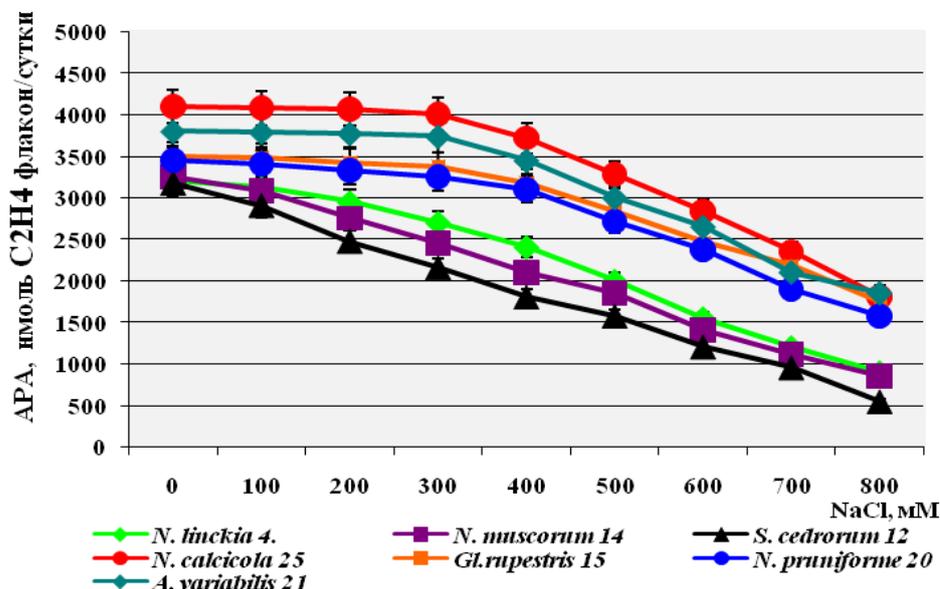


Рис. 3. Ацетилен-редуктазная активность (АРА) цианобактерий в условиях засоления

При изучении влияния тяжелых металлов Cu^{+2} и Co^{+2} на азотфиксирующую активность солеустойчивых штаммов цианобактерий установлено, что при концентрации 10 и 30 мМ Cu^{+2} *A. variabilis* 21 сохраняет азотфиксирующую активность на 90% и 80% по отношению к исходной активности, соответственно. Азотфиксирующая активность солеустойчивых цианобактерий, *N. calcicola* 25, и *A. variabilis* 21 в присутствии Co^{+2} в концентрации 10 и 30 мМ составляла 96%, 92,0% и 82,5%, 69,0% от исходной активности, соответственно. Результаты наших исследований показывают высокий адаптационный потенциал цианобактерий, а также открывают перспективы для дальнейших исследований возможности их использования для биоремедиации почв, загрязненных ионами тяжелых металлов.

В микровегетационных опытах в стерильной почве при инокуляции растений пшеницы штаммами *N. calcicola* 25, *A. variabilis* 21 и *Gl. rupestris* 15 на фоне засоления 200 мМ NaCl азотфиксирующая активность ассоциативного симбиоза «цианобактерия – растение» составляла 3600, 3380 и 3150 C_2H_2 нмоль/флакон/сутки (рис.4), соответственно, т.е. показатели практически остаются на уровне контрольных вариантов. Вероятно, наличие азотфиксирующей активности при умеренном засолении (до 200 мМ NaCl) является адаптационным ответом цианобактерий.

Изучение влияния цианобактерий на рост и развитие пшеницы сорта «Унумдор бугдой» при различных концентрациях NaCl в вегетационном опыте со стерильной и нестерильной почвой показало, что в пределах 50 –

200 мМ NaCl стимулировал рост и развитие растений по отношению к контролю (варианты без NaCl и цианобактерий). При инокуляции пшеницы с *N. calcicola* 25, *A. variabilis* 21 и *Gl.rupestris* 15 при концентрации 50 мМ NaCl биомасса пшеницы увеличивалась в стерильных и нестерильных вариантах эксперимента от 8,8 до 11,1% (рис 5).

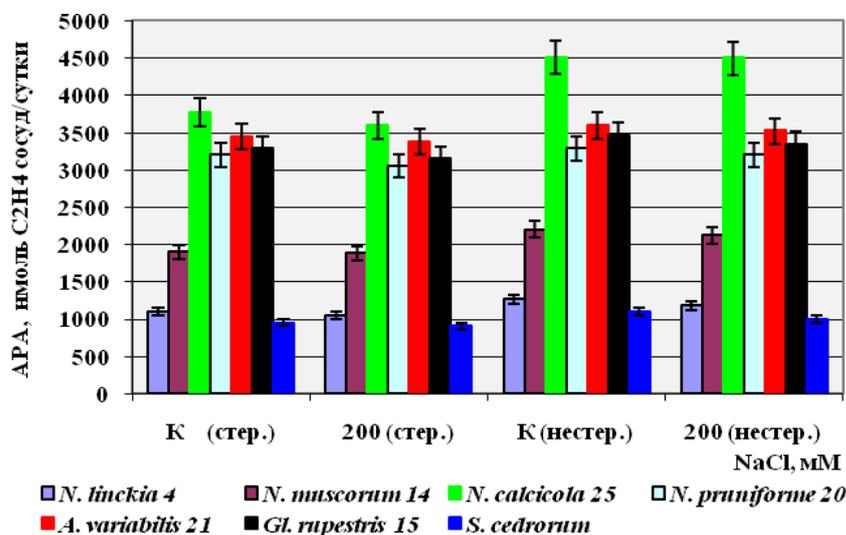


Рис.4. Азотфиксирующая активность ассоциации «цианобактерия-растение» в стерильных и нестерильных почвах при концентрации NaCl 200 мМ в микроvegetационных опытах



Рис. 5. Влияние инокуляции цианобактерий на рост, развитие пшеницы на фоне 50 мМ в вегетационном опыте со стерильной почвой: 1-контроль (50 мМ NaCl), 2-контроль (без NaCl), 3-*Nostoc pruniforme* 20 + 50 мМ NaCl, 4-*Gloeothecae rupestris* 15 + 50 мМ NaCl, 5- *Nostoc calcicola* 25 + 50 мМ NaCl, 6-*Anabaena variabilis* 21 + 50 мМ NaCl

В целом, выращивание растений на фоне 100 мМ NaCl (условный порог солеустойчивости пшеницы около 85-100 мМ NaCl) приводило к потере биомассы растений пшеницы в стерильных вариантах опыта. Биомасса пшеницы, выросшей на стерильной и нестерильной почве с *N.calcicola* 25 на фоне засоления 100 мМ NaCl оставалась на уровне растений, выросших без инокуляции цианобактерий и без добавления NaCl. Выращивание растений на фоне засоления 150 и 200 мМ NaCl приводило к потере общей биомассы растений пшеницы от 10 до 22%.

В шестой главе работы «Фитогормон-продуцирующая активность местных солеустойчивых и азотфиксирующих штаммов цианобактерий» представлены данные о фитостимулирующих свойствах цианобактерий в условиях засоления. Изучение влияния фитостимулирующих свойств солеустойчивых цианобактерий на рост и развитие растений показало, что культуральная жидкость стимулировала вес у изолированных семядолей хлопчатника в малых концентрациях при разведении 1:10 000 примерно на 29–36%, а в больших концентрациях при разведении 1:10 она их ингибировала на 12-20%. В условиях вегетационного опыта, культуральная жидкость цианобактерий стимулировала рост корневой системы и наземных органов пшеницы в малых концентрациях (1:1000), примерно на 3,0 и 4,5 см, по отношению к контролю. Культуральная жидкость *N.pruniforme* 20, *N.calcicola* 25, *A.variabilis* 21 и *Gl.rupestris* 15 увеличивает высоту стебля и длину корня пшеницы на 22,7% и 25%, 31,7% и 36%, 22,1% и 17,1%, 28,7% и 32,8 %, соответственно. Также выявлено, что штаммы *N.pruniforme* 20; *N.calcicola* 25; *A.variabilis* 21 и *Gl.rupestris* 15 повышали энергию прорастания, всхожесть и силу роста семян хлопчатника при разведении 1:10 000 от 20 до 50%.

Таким образом, экспериментально показано, что изученные штаммы цианобактерий стимулируют прорастание семян хлопчатника, рост корневой системы и наземных органов пшеницы.

Изучение уровня продукции индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) цианобактериями, проводили при различных концентрациях триптофана - 1, 3 и 5 мг/мл. У активных штаммов цианобактерий *N. calcicola* 25 и *A. variabilis* 21 синтез ИУК без триптофана через три дня культивирования (лаг фаза) составляет 10,20 и 7,40 мг/л, через 7 дней - 19,0 и 13,65 мг/л, соответственно. У *N. calcicola* 25 и *A. variabilis* 21 синтез ИУК через 7 сут выращивания (лог фаза) при концентрации триптофана 1; 3 и 5 мг/мл соответствовал значениям 50,45; 97,5; 210 и 30,45; 66,45; 110 мг/л, соответственно. Было отмечено, что при добавлении в среду выращивания триптофана в количестве 5 мг/мл продуцирование ИУК культурой *N.calcicola* 25 повышается в 11 раз. Дальнейшее выращивание цианобактерий до 14 дней (стационарная фаза), в целом приводит к увеличению продуцирования ИУК. Наиболее активными ауксинпродуцирующими штаммами являются *N. calcicola* 25 и *A. variabilis* 21.

Для определения физиологического состояния цианобактерий при солевом стрессе было изучено продуцирование ИУК у *N. calcicola* 25 и *A. variabilis* 21 в присутствии 300 мМ NaCl и различных концентраций триптофана (от 0,5 мг/мл до 2,5) в питательной среде (рис.6 а,б.) Продуцирование ИУК *N.calcicola* 25 и *A. variabilis* 21 увеличивается на 9 сутки выращивания в присутствии соли вне зависимости от концентраций триптофана (рис.6). Максимальный синтез ИУК *N. calcicola* 25 и *A. variabilis* 21 наблюдается на 14 сутки культивирования. Продуцирование ИУК культурами *N. calcicola* 25 в присутствии 0,5 мг/мл и 2,5 мг/мл

триптофана составляет 26,6 и 48,6 мг/л, соответственно (рис.6б). Следует отметить, что продуцирование ИУК культурой *N. calcicola* 25 в присутствии 300 мМ NaCl и 2,5 мг/мл триптофана было в 3,3 раза больше контроля в течение 14 сут культивирования.

В седьмой главе диссертации «Дегградация хлорорганических пестицидов местными штаммами цианобактерий» представлены результаты по деструктивной активности по отношению к полихлорированным бифенилам и линдану цианобактериями.

Проведен скрининг солеустойчивых штаммов цианобактерий на способность использовать ПХБ в качестве единственного источника углерода и энергии. После 12 сут культивирования цианобактерий нами была выявлена деструкция и остаточное количество меченной тритием ПХБ в культуре и супернатанте. Показано, что практически все исследуемые

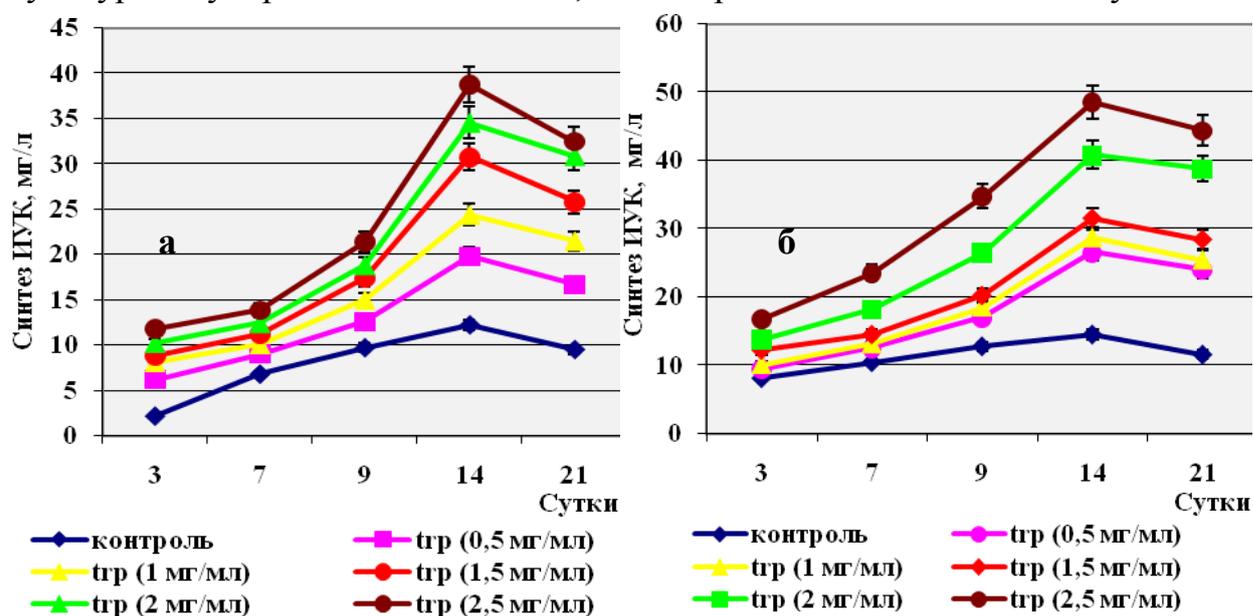


Рис.6. Продуцирование ИУК культурами *Anabaena variabilis* 21 (а) и *Nostoc calcicola* 25 (б) в присутствии 300 мМ NaCl и различных концентраций триптофана

штаммы обладают деструктивной активностью ПХБ. У *N. pruniforme* 20, *A.variabilis* 21 и *Gl.rupestris* 15 процент оставшейся радиоактивности ПХБ по отношению к контролю составляет 49,91%, 47,36% и 51,19%, соответственно. Т.е. культуры *N. pruniforme* 20, *A.variabilis* 21 и *Gl.rupestris* 15 деструктируют ПХБ в культуре от 48,81% до 52,64% (табл.1).

В таблице 2 представлены обобщенные данные по динамике трансформации меченной тритием ПХБ в течение 2 и 4 месяцев в почве, интродуцированной местными штаммами цианобактерий. Как видно из таблицы 2, распределение тритиевой метки после разделения экстракта тонкослойной хроматографией на силикагеле после 2 месяцев инкубации цианобактерий *N.pruniforme* 20 установлено, что остаточная радиоактивность меченной тритием ПХБ составляет 793 имп/10 сек (старт), 1 727 имп/10 сек (ПХБ) и 2 803 имп/10 сек (фронт). Исходя из полученных данных, можно

заклучить, что данная культура деградирует ПХБ на 40,43% по отношению к контролю. Дальнейший ТСХ анализ радиоактивности в течение 4 мес

Таблица 1

Деструкция меченных тритием ПХБ цианобактериями

№	Название культуры	Цианобактерии, радиоактивность в 100 мкл, имп/10 сек	Супернатант, радиоактивность в 100 мкл, имп/10 сек	Суммарная радиоактивность в 100 мкл, имп/10 сек
1	<i>N. pruniforme</i> 20	520	8 400	8 920
2	<i>N. calcicola</i> 25	1 596	10 776	12 372
3	<i>A. variabilis</i> 21	424	8 040	8 464
4	<i>Gl. rupestris</i> 15	748	8 400	9 148
5	Контроль	17 872		17 872

инкубации цианобактерий в почве показал, что радиоактивность меченной тритием ПХБ при старте, основных ПХБ и фронте значительно уменьшается по отношению к 2 мес инкубации. Следовательно, деструктивная активность *N. pruniforme* 20 составляет 65,64%, *N. calcicola* 25 - 68,12% и *A. variabilis* 21 - 73,28% (табл.2).

Таблица 2

Распределение тритиевой метки после разделения экстракта тонкослойной хроматографией на силикагеле после 2 и 4 месяцев инкубации цианобактерий

Название культуры, (1) - старт, (2) - ПХБ, (3) - фронт	Радиоактивность, имп/10 сек	Суммарная радиоактивность фракций, имп/10 сек	Радиоактивность, имп/10 сек	Суммарная радиоактивность фракций, имп/10 сек
<i>N. pruniforme</i> 20 (1)	793	5 323	408	3 070
<i>N. pruniforme</i> 20 (2)	1 727		2 652	
<i>N. pruniforme</i> 20 (3)	2 803		10	
<i>N. calcicola</i> 25 (1)	1 626	6 995	180	2848
<i>N. calcicola</i> 25 (2)	1 688		2082	
<i>N. calcicola</i> 25 (3)	3 681		586	
<i>A. variabilis</i> 21 (1)	166	5734	1580	2387
<i>A. variabilis</i> 21(2)	5 518		573	
<i>A. variabilis</i> 21 (3)	50		234	
<i>Gl. rupestris</i> 15 (1)	1 676	5786	2 406	3 196
<i>Gl. rupestris</i> 15 (2)	1 755		216	
<i>Gl. rupestris</i> 15 (3)	2 355		574	
Контроль (1)	31	8 936	76	8 936
Контроль (2)	8 792		8 770	
Контроль (3)	113		90	

Одной из основных биологических особенностей местных штаммов солеустойчивых цианобактерий является биodeградация линдана в почве в условиях засоления. Исходя из этого, далее нами были проведены

исследования по изучению деструктивных свойств пестицида линдана цианобактериями при концентрации хлорида натрия 4%. Исследованные штаммы цианобактерий и их ассоциации продемонстрировали очень высокую и стабильную линдан-деструктивную активность в течение 4 мес в условиях засоления. Так, цианобактерии *N.calcicola* 25, *A.variabilis* 21 и ассоциация *N.pruniforme* 20 + *A. variabilis* 21 активно разрушали внесенный линдан, о чем свидетельствуют хроматограммы линданов (рис.7), а количество оставшегося линдана составляет 14 нг/г почвы. Следует отметить, что содержание линдана снизилось с 2 мкг/г почвы до 14 нг/г почвы в условиях засоления, что составляет 0,7% от внесенного линдана, т.е. цианобактерии деструктируют линдан на 99,3% по отношению к контролю. Результаты наших исследований позволяют сделать вывод о высокой эффективности деструкции линдана практически всеми исследованными штаммами цианобактерий и их ассоциаций в модельных условиях в засоленной почве (4% NaCl). Нами была также изучена выживаемость цианобактерий в данных условиях. Присутствие линдана в количестве 2 мкг/г почвы и 4% NaCl значительно влияет на рост и развитие цианобактерий в течение 4 месяцев. Так, через 4 месяца инкубации титр клеток *A.variabilis* 21, *N.pruniforme* 20 и *Gl. rupestris* 15 снижается на два порядка. К концу эксперимента количество клеток *N. calcicola* 25 снижается только лишь на один порядок по отношению к исходному количеству клеток. А что касается ассоциации цианобактерий *N. pruniforme* 20 + *A. variabilis* 21, исходное количество составляло $3,8 \cdot 10^7$ кл/мл, а в конце эксперимента – $1,4 \cdot 10^5$ кл/мл. Поскольку в данных экспериментах линдан практически полностью утилизируется местными штаммами цианобактерий, можно предположить, что ГХЦГ служит единственным источником углерода для данных культур.

В восьмой главе работы «**Оценка эффективности местных штаммов цианобактерий *A. variabilis* 21 и *Noctoc calcicola* 25 в производственно-полевых испытаниях**» дана оценка эффективности местных штаммов цианобактерий *A. variabilis* 21 и *N. calcicola* 25 в производственно-полевых испытаниях. Нами проведены производственные испытания биопрепарата «CYANO-UZ», созданного на основе эффективных штаммов цианобактерий *Noctoc calcicola* 25 и *Anabaena variabilis* 21 в фермерском хозяйстве Чиракчинского района Кашкадарьинской области на площади 1 га и получен прибавочный урожай хлопчатника 4%. На протяжении всего периода вегетации хлопчатника после внесения цианобактерий проводили фенологические наблюдения за развитием растений. В фазе «5-6 настоящих листьев» при появлении листьев на контрольном поле (NPK), на опытном поле наблюдали появление первых бутонов. В период цветения растений на контрольном поле появились цветки, а в варианте с применением биопрепарата обнаруживались уже и первые коробочки. В фазе плодоношения на опытном участке ускорялось развитие коробочек и их было на 2-3 коробочки на одно растение больше, чем в контроле.

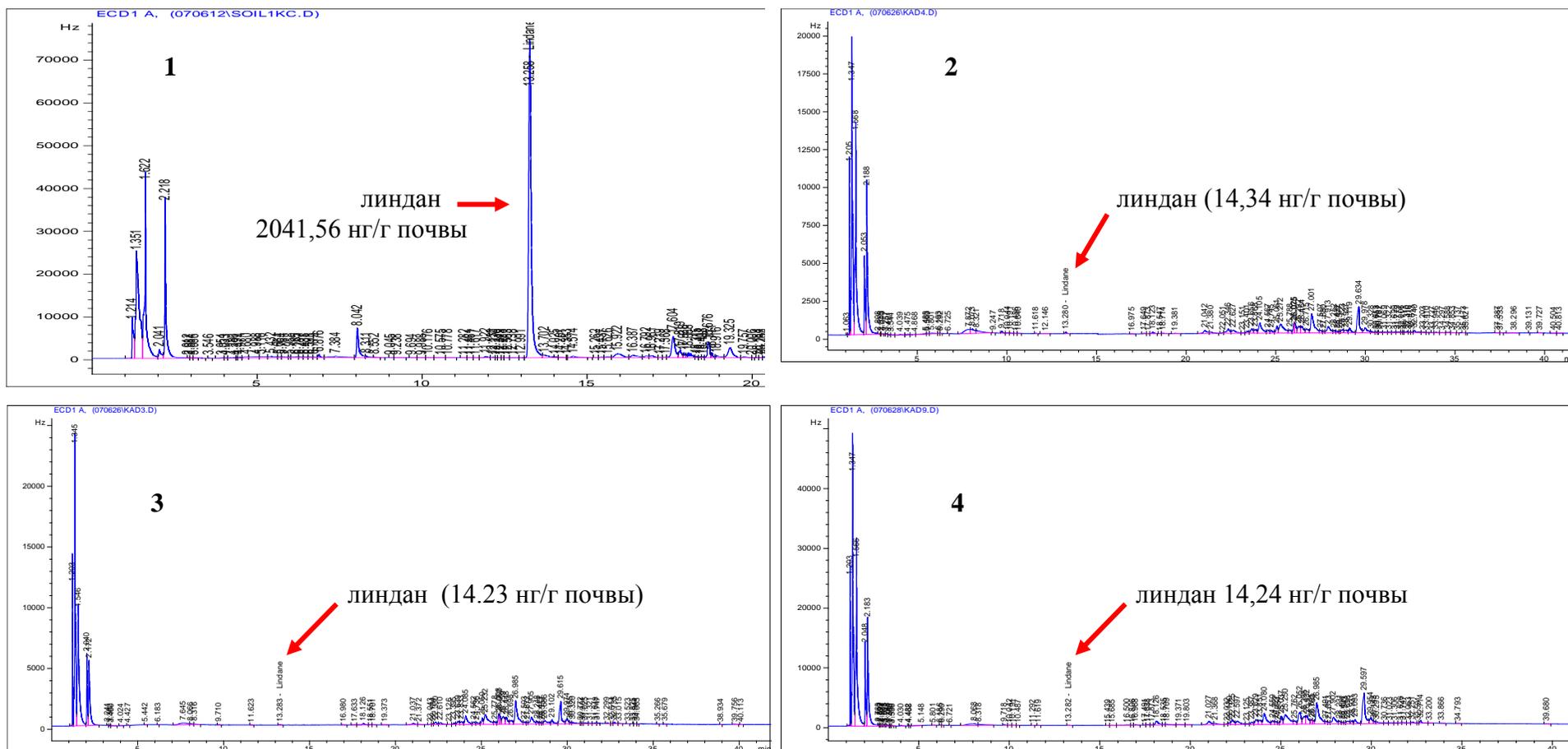
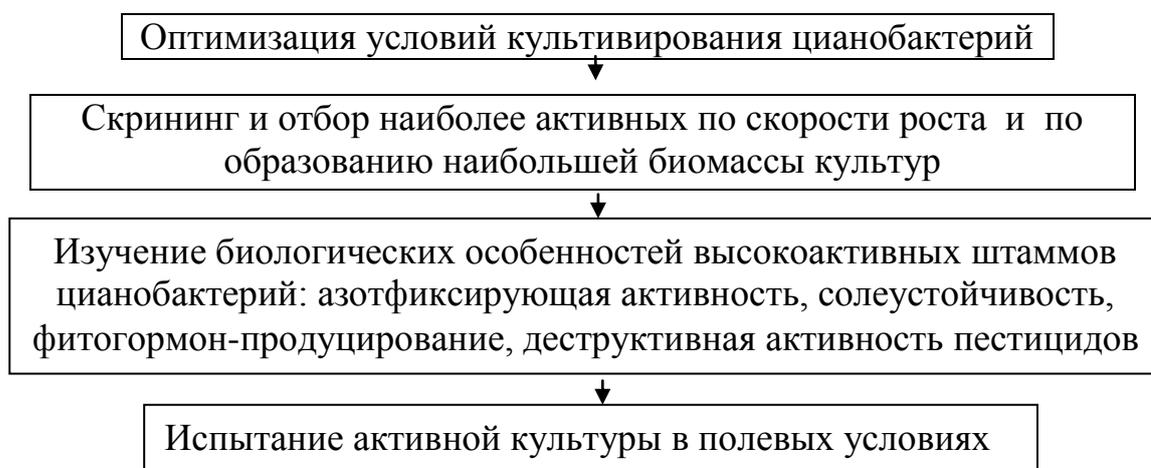


Рис.7. Хроматограммы гексанового экстракта из образцов почвы после 4 месяцев инкубации: 1- контрольный образец почвы, 2 - образец почвы с *Nostoc calcicola* 25, 3 - образец почвы с *Anabaena variabilis* 21, 4 - образец почвы *Nostoc pruniforme* 20 + *Anabaena variabilis* 21.

В период массового созревания хлопчатника измеряли средний вес коробочки в каждом варианте. Выявлено, что в опытном варианте средний вес одной коробочки на 0,75-0,80 гр больше по сравнению с контролем.

Также было установлено, что потенциальная азотфиксирующая активность почвы интродуцированной биопрепаратом "CYANO-Uz" повышается на 38% по отношению к исходной активности (350 мкмол/кг почвы/час) и составляет 485 мкмол/кг почвы/час.

Экспериментальные исследования по выделению и скринингу активных форм местных штаммов цианобактерий с последующими этапами испытаний в сельскохозяйственной практике, проведенные в рамках выполнения диссертационной работы, могут быть представлены в виде следующей схемы:



Таким образом, в ходе проделанной работы отселекционированы высокоэффективные азотфиксирующие и солеустойчивые, фитогормон-продуцирующие, деструктирующие хлорорганические пестициды (ПХБ, ГХЦГ) местные штаммы цианобактерий *N. pruniforme* 20, *A. variabilis* 21, *Gl. rupestris* 15 и *N. calcicola* 25, которые стимулируют рост и развитие сельскохозяйственных растений в условиях засоления и загрязнения пестицидами.

По совокупности полученных результатов, основными биологическими особенностями местных штаммов цианобактерий в экстремальных условиях являются следующие: высокая азотфиксирующая активность, солеустойчивость (от 100 до 1 М), продуцирование фитогормонов, высокая и стабильная деструктивная активность хлорорганических пестицидов.

ВЫВОДЫ

В результате исследований, проведенных в рамках докторской диссертационной работы «Биологические особенности азотфиксирующих цианобактерий в экстремальных условиях», представлены следующие выводы:

1. Впервые из образцов орашаемых почв с различной степенью засоления и загрязнения пестицидами Наманганской, Кашкадарьинской и Сырдарьинской областей Узбекистана и ризосферы растений выделены альгологически и бактериологически чистые местные штаммы цианобактерий - *Nostoc puriniforme* 20, *Nostoc linckia* 4, *Nostoc calcicola* 25, *Nostoc muscorum* 14, *Anabaena variabilis* 18, *Anabaena variabilis* 21, *Gloeotheca rupestris* 15, *Synechococcus cedrorum* 12.
2. Подобраны оптимальные условия культивирования местных штаммов цианобактерий на среде BG-11₀: температура 28-30°C, CO₂ - 2%, освещенность - 3000 лк и pH среды 7,5, что дает возможность повысить накопление биомассы и азотфиксирующую активность культур.
3. Активные местные штаммы цианобактерий обладают значительной устойчивостью к высоким концентрациям хлорида натрия (800 мМ), что связано с увеличением содержания глицина и пролина в клетках цианобактерий, а также наличием одной формы альдегидоксидазы и ксантиндегидрогеназы.
4. Хлорид натрия в концентрации 200 мМ практически не подавляет азотфиксирующую активность цианобактерий, которая остается значительной при содержании в среде до 800 мМ NaCl. Выявлено, что при интродукции в почву активных солеустойчивых штаммов цианобактерий содержание гумуса увеличивается на 0,38 %, общего азота - на 0,8 %, аммиачного азота - на 0,003 мг/кг почвы, общего калия – 0,1 мг/кг почвы, а содержание общего фосфора уменьшается на 0,02 мг/кг почвы по отношению к контролю, что способствует улучшению химического состава и повышению плодородия почв в условиях засоления.
5. Установлено стимулирующее влияние цианобактерий *N.pruniforme* 20, *N.calcicola* 25, *A.variabilis* 21 и *Gl.rupestris* 15 на рост и развитие растений, которое определяется по положительному влиянию культуральной жидкости местных штаммов на энергию прорастания, всхожесть и силу роста семян хлопчатника, а также наземную и корневую системы пшеницы.
6. Стимулирующее влияние местных культур цианобактерий связано с продуцированием ими значительных количеств ИУК. Через 7 сут культивирования *N.calcicola* 25, *Gl.rupestris* 15 и *A.variabilis* 21 содержание ИУК составляет от 13,65 до 19,00 мг/л. Добавление в среду культивирования триптофана в количестве 5 мг/мл увеличивает способность продуцирования ИУК от 30,45 до 110 мг/л.
7. При концентрации 300 мМ NaCl продуцирование ИУК культурами *Nostoc calcicola* 25 и *Anabaena variabilis* 21 составляет от 12,2 до 14,5 мг/л. Присутствие триптофана на среде в концентрации 2,5 мг/мл способствует

увеличению продуцирования ИУК более чем в 3 раза, что дает возможность использовать культуры для стимуляции роста и развития хлопчатника, пшеницы в засоленных почвах.

8. Впервые выявлена высокая деструктивная активность культур *N. pruniforme* 20, *N. calcicola* 25 и *A. variabilis* 21 полихлорированных бифенилов, что показывает возможность рекомендовать местные штаммы в качестве активных биодеструкторов пестицидов в почвах.

9. Деструктивная активность линдана культур *Nostoc calcicola* 25, *N. pruniforme* 20, *Gl. rupestris* 15 и *Anabaena variabilis* 21 и их ассоциации в почве в условиях 4% засоления составляет 99,3%. Это дает возможность рекомендовать использование активных штаммов цианобактерий и их ассоциаций для значительного снижения степени загрязнения линданом сильнозасоленных почв.

10. На основе культур *Nostoc calcicola* 25 и *Anabaena variabilis* 21, усиливающих рост и развитие растений и повышающих устойчивость к засолению, создан биопрепарат "CYANO-UZ", обладающий биологической и экономической эффективностью. Биопрепарат с комплексным действием рекомендуется для усиления роста и развития, увеличения урожайности, устойчивости к засолению, повышения потенциальной азотфиксирующей активности и плодородия засоленных почв, а также активной деструкции пестицидов.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREE
DSc.27.06.2017.B.38.01 AT INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND
NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

INSTITUTE OF MICROBIOLOGY

KADIROVA GULCHEKHRA

**BIOLOGICAL FEATURES OF NITROGEN FIXING CYANOBACTERIA
IN EXTREME CONDITIONS**

03.00.04 – microbiology and virology

ABSTRACT OF DISSERTATION OF DOCTOR OF BIOLOGICAL SCIENCES (DSc)

T a s h k e n t – 2018

This dissertation of DSc has been registered with the number B2017.1.DSc/B9 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Institute of microbiology.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (resume)) languages on the website of the Scientific Council (www.microbio.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziyo.net).

Scientific consultant:

Gulyamova Tashkhan

doctor of biological sciences, professor

Official opponents:

Buriev Sulayman

doctor of biological sciences, professor

Zaynitdinova Ludmila

doctor of biological sciences

Khujamshukurov Nortoji

doctor of biological sciences

Leading organization:

Institute of Botany

Defence will take place on « 7 » march 2018 year 10-00 at the once-only meeting of the Scientific council DSc.27.06.2017.B.38.01 of the Institute of Microbiology and National University of Uzbekistan: (Address: 100128, Tashkent, 7B, A.Kadyri str. Conference hall of the palace of the Institute of microbiology. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre at the Institute of Microbiology under № 6 (Address: 100128, Tashkent, 7B A.Kadyri str. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71), e-mail: info@microbio.uz).

The abstract of dissertation is distributed on « 20 » february 2018 year.
(Protocol at the register 16 on «20» february 2018 year)

Aripov Takhir

Chairman of the scientific council awarding scientific degrees, academician

Nasmetova Saodat

Scientific secretary of the scientific council awarding scientific degrees, PhD, senior researcher

Vakhabov Abdurasul

Chairman of the academic seminar under the scientific council awarding scientific degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of doctor of science (DSc) dissertation)

The aim of the research work was determination of perspectives of application of local strains of salt-tolerant nitrogen-fixing cyanobacteria with multifunctional properties for bio-reduction and increase in soil fertility in extreme condition.

The objects of the research work were local strains of cyanobacteria isolated from soil and rhizosphere samples of cotton and wheat, polychlorinated biphenyls (PCBs), hexachlorocyclohexane, cotton seed of variety "Bukhara-6" and wheat of "Unumdor bugday".

Scientific novelty of the research work:

for the first time, multifunctional properties of local strains of cyanobacteria isolated from saline and contaminated soils as well as from the rhizosphere of cotton and wheat growing on irrigated soils in Uzbekistan are showed. Based on morphological, cultural and genetic characteristics the isolated local strains of cyanobacteria were identified as *Nostoc puriniforme* 20, *Nostoc linckia* 4, *Nostoc calcicola* 25, *Nostoc muscorum* 14, *Anabaena variabilis* 18, *Anabaena variabilis* 21, *Gloeotheca rupestris* 15, *Synechococcus cedrorum* 12;

for the first time it was established that the local strains of cyanobacteria were capable to grow, develop and nitrogen- fixing activity at 800 mM NaCl; the humus, total nitrogen and potassium ammonia content were increased by introduction of active strains of cyanobacteria, while the total phosphorus content was reduced in relation to the control;

for the first time it was proved that, in response to salt stress in cyanobacterial cells, the content of glycine and proline was sharply increased and also present of one form of aldehyde oxidase and xanthine dehydrogenase;

the stimulation effect of cultural broth of salt-resistant cyanobacteria on the germination energy, germination capacity and force seed growth of cotton seeds as well as height and length of the root of wheat was determined;

the synthesis of IAA by cyanobacteria regardless of L-tryptophan contents was revealed;

the stable and high ability to destruct polychlorinated biphenyls and lindane by the local strains of cyanobacteria and their associations in condition of salinity were proved;

Implementation of the research results. On the basis of the effective cyanobacteria *N. calcicola*-25 and *A. variabilis*-21, plant developmental and growth stimulating biopreparation in extreme conditions has been obtained and following scientific results are stated:

the local strains of the nitrogen-fixing cyanobacteria isolated from soils contaminated with salts and pesticides were used for improvement of plant tolerance in extreme conditions in frame of the project titled "Improvement of cotton and wheat plants' resistances for aridity and salinity by the application of diazotrophic rhizobacteria' biomolecules (poly- β -hydroxybutirate and exopolysaccharides) (reference letter № FTA-03-11/1294 of the Agency of

Science and Technologies of the Republic of Uzbekistan from 14th November 2017). In result, utilization of active local cyanobacterial strains in stress conditions as producers of exopolysaccharides allowed to improve aridity and salinity tolerances of the cotton and wheat;

biopreparation of “CYANO-UZ” prepared on the basis of the active salt-tolerant cyanobacteria was implemented in cotton and wheat area of the Kashkadarya, Bukhara and Surkhandarya regions (reference letter № 02/23-1266 of the Ministry of agriculture and water resources of the Republic of Uzbekistan from 7th December 2016). In result, it allowed to improve cotton yield for 4,2 % to compare control and wheat yield for 4%;

“CYANO-UZ” biopreparation has been implemented in practice to increase nitrogen-fixing capacity of medium saline soils in the farms of Kashkadarya region (reference letter № 02/23-1266 of the Ministry of agriculture and water resources of the Republic of Uzbekistan from 7th December 2016). In the result of implementation the biological soil nitrogen level has been increased for 38%.

The structure and volume of the thesis. Containing 193 pages of text, the dissertation has introduction, 8 chapters, conclusions and list of references and appendices.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; part I)

1. Халилов И.М., Кадырова Г.Х., Юсупов Т.Ю., Мурадов М. Биосинтез белков и нуклеиновых кислот в клетках цианобактерий *Nostoc* sp.№39 при литическом пути развития цианофага NP-1Т (5) //Узбекский биологический журнал. –Ташкент, 1998.- С.14-17. (03.00.00; №5).
2. Кадырова Г.Х. Продуцирование ауксина цианобактериями// Узбекский биологический журнал. -Ташкент, 2004. - №4. - С.9-13. (03.00.00; №5).
3. Кадырова Г.Х. Влияние биостимуляторов цианобактерий на рост и развитие сельскохозяйственных растений //Доклады АН РУз. –Ташкент, 2004. – №5. - С.74-78. (03.00.00; №6).
4. Кадырова Г.Х. Азотфиксирующая активность цианобактерий в условиях засоления //Узбекский биологический журнал.-Ташкент, 2006. - №1-2, - С.25-29 (03.00.00; №5).
5. Кадырова Г.Х. Продуцирование цианобактериями индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) в присутствии триптофана //Узбекский биологический журнал.- Ташкент, 2007. - №1. -С.34-38. (03.00.00; №5).
6. Кадырова Г.Х., Ким А.А., Джураева Г., Халилов И.М., Джаббарова О.И. Деструкция полихлорированных бифенилов цианобактериями// Доклады АН РУз.-Ташкент, 2007. - №4. -С.63-66. (03.00.00; №6).
7. Кадырова Г.Х. Влияние различных концентраций NaCl и тяжелых металлов на синтез индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) цианобактериями //Узбекский биологический журнал. –Ташкент, 2010. Спец. Вып. -С.32-37. (03.00.00; №5).
8. Кадырова Г.Х. Таксономия и азотфиксирующая активность негетероцистных местных цианобактерий *Synechococcus cedrorum* в условиях засоления // Вестник УзНУ.-Ташкент, -2011. Спец. Вып. - С.196-198. (03.00.00; №9).
9. Кадырова Г.Х. Таксономия и некоторые свойства местных азотфиксирующих цианобактерий рода *Nostoc* // Доклады АН РУз.-Ташкент, 2012. - №1. -С.71-75. (03.00.00; №6).
10. Кадырова Г.Х. Влияние тяжелых металлов на азотфиксирующую активность местных штаммов цианобактерий // Доклады АН РУз. –Ташкент, -2012, - №3. - С.60-63. (03.00.00; №6).
11. Kadirova G.Kh., Z.S.Shakirov Identification of nitrogen-fixing and salt-resistant cyanobacteria *Nostoc calcicola* isolated from the rhizosphere of cotton in Uzbekistan // Environmental Science An Indian Journal, 2012. – Vol. 7, Issue 8. - P.305-309.
12. Кадырова Г.Х. Использование местных солеустойчивых штаммов цианобактерий в агробιοтехнологии // Узбекский биологический журнал. – Ташкент, -2012. - Спец.Вып. -С.30-32. (03.00.00; №5).

13. Кадырова Г.Х. Деградация меченных тритием полихлорированных бифенилов (ПХБ) азотфиксирующими цианобактериями *Nostoc calcicola* и *Anabaena variabilis* в модельных условиях в почве // Вестник УзНУ.-Ташкент, 2013.- №4/2. -С.161-163. (03.00.00; №9).
14. Кадырова Г.Х., Коробкова Е.С. Идентификация цианобактерий рода *Anabaena* выделенных из ризосферы хлопчатника // Украинский микробиологический журнал. –Киев, 2013. - Т.75. -№1. -С.27-32. (14.00.00; №86).

II бўлим (II часть; II part)

15. Халилов И.М., Кадырова Г.Х., Юсупов Т.Ю., Мурадов М. Молекулярные механизмы фагоустойчивости клонов культуры цианобактерий *Nostoc* sp.№39 к цианофагу NP-1T (5) // Тезисы докладов 1-съезда микробиологов Узбекистана. - Ташкент, 1997.- С.92.
16. Менджул М.И., Лысенко Т.Г., Колтукова Н.В., Кадырова Г.Х. Ключевые ферменты биосинтеза аминокислот глутаминового ряда в вирус-клеточной системе *Anabaena variabilis* + A-1 // Украинский биохимический журнал. – Киев, 1998. - Т.70. -№1. - С.16-22.
17. Кадырова Г.Х., Цианобактерии – широкий спектр использования для биостимуляции сельскохозяйственных культур //Тезисы докладов II-съезда микробиологов Узбекистана.- Ташкент, 2000. - С.42-43.
18. Kadirova G.Kh.The role of cyanobacteria in increasing soil fertility // Conf. proceeding 5th Inter. Symposium on the Chemistry of Nat.Compounds.– Tashkent, 2003. - P.43.
19. Кадырова Г.Х. Изучение генетических особенностей штаммов цианобактерий-активных азотфиксаторов и продуцентов биологически активных веществ //Тезисы докладов конференции «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии». - Ташкент, 2003. - С.85-86.
20. Кадырова Г.Х. Цианобактерии активные азотфиксаторы в условиях засоления // Тезисы докладов 3-го Съезда микробиологов Узбекистана. - Ташкент, 2005. - С.55.
21. Кадырова Г.Х., Жаббарова О.И., Халилов И.М. Цианобактерии – активные продуценты фитогормонов и деструкторы пестицидов в условиях засоления почв //Материалы республиканской конференции «Проблемы экологии в сельском хозяйстве». - Бухара, 2006. - С. 220-222.
22. Кадырова Г.Х., Kim A.A., Djuraeva G.T., Dadakhanov J.A., Khalilov I.M., Djabarova O.I. Research of properties of active nitrogen fixing strains of cyanobacteria destructors of pesticides with use of tritium labelled polychlorinated biphenyls// Abs. The 7-International conference «Modern problems of nuclear physics». - Tashkent, 2006. - P.268-269.
23. Kadirova G.Kh. The synthesis of indole-3-acetic acid by local strains of Cyanobacteria// Abs. 7th Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Oct, 16-18 - Tashkent (Uzbekistan), 2007. - P 270.
24. Кадырова Г.Х., Жаббарова О.И. Деструкция хлорорганических

- соединений цианобактериями //Тезисы докладов 11-й Пущинской международной школы-конференции молодых ученых «Биология Наука XXI Века. - Москва (Россия), 29 октябрь- 2 ноябрь, 2007. - С.195.
25. Кадырова Г.Х., Расулов Б.А., Джаббарова О.И., Халилов И.М. Биовосстановление засоленных почв цианобактериями //Тезисы докладов международной научной конференции «Микроорганизмы и Биосфера». - Москва (Россия), 19-20 ноябрь, 2007. – С.49-50.
26. Кадырова Г.Х. Азотфиксирующая активность симбиоза «цианобактерия-растения» в условиях засоления // Тезисы докладов научной конференции «Фундаментальные и прикладные аспекты исследования симбиотических систем». - Саратов (Россия), 25-27 сентябрь, 2007. - С. 47.
27. Кадырова Г.Х. Синтез индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) местными штаммами цианобактерий//Материалы VI Международной конференции «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии». - Минск (Белоруссия), 2-6 июня, 2008. - Том. 1.- С.288-291.
28. Кадырова Г.Х. Some properties of salt tolerant nitrogen-fixing strains of cyanobacteria //International congress of bacteriology and applied Microbiology: Turkish Microbiological society of Microbiology. – Istanbul (Turkey), 5-9 august, 2008. -P.178.
29. Кадырова Г.Х., Шакиров З.С. Изменение агрохимических показателей почв под влиянием цианобактерий //Тезисы докладов IV-съезда Микробиологов Узбекистана. - Ташкент, 2008. –С.44.
30. Кадырова Г.Х. Влияние различных концентраций NaCl на продуцирование ауксина у цианобактерий //Тезисы докладов IV - съезда Микробиологов Узбекистана. - Ташкент, 2008. – С.45.
31. Кадырова Г.Х., Расулов Б.А. Цианобактерии – активные деструкторы хлорорганических соединений в условиях засоления// Тезисы докладов 12-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология – Наука XXI Века». - Пущино (Россия), 12-14 ноябрь, 2008. – С.220.
32. Кадырова Г.Х., Ким А.А., Дадаханов Дж.А. Деструкция хлорорганических соединений солеустойчивыми штаммами цианобактерий и их ассоциациями //Тезисы докладов международной конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений». - Ташкент, 18-19 марта, 2009. - С.138.
33. Кадырова Г.Х. Синтез индолил -3- уксусной кислоты (ИУК) цианобактериями при различных концентрациях NaCl и тяжелых металлов// Тезисы докладов XII-съезда общества микробиологов Украины.- Ужгород (Украина), 25-30 мая, 2009. -С.374.
34. Кадырова Г.Х. Цианобактерии – фотосинтезирующие азотфиксаторы и биостимуляторы роста и развития высших растений в условиях засоления // Тезисы докладов Республиканской Научной конференции «Проблемы современной микробиологии и биотехнологии». - Ташкент (Узбекистан), 2009. - С.83-84.

35. Кадырова Г.Х. Деструкция пестицидов цианобактериями// Материалы VII Международной конференции «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии». - Минск (Белоруссия), 31 мая-4 июня, 2010. - С. 355-357.
36. Кадырова Г.Х., Расулов Б.А. Деградация гексохлорциклогексана (ГХЦГ) цианобактериями// Тезисы докладов 14-ой Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология – Наука XXI Века». - Пущино (Россия), 19-23 апрель, 2010. – С.254.
37. Kadirova G.Kh., Kim A. A., Lorenz A., Rasulov B. Functioning of Salt Tolerant *Anabaena variabilis* and *Nostoc calcicola* Strains in Salt Stress, Destructors of Hexachlorocyclohexane (HCH) in Saline Conditions // Environment and Natural Resources Research (Canada), 2012. - №1. -P. 63-72. (Google-based IF: 2.67).
38. Кадырова Г.Х., Халилов И.М. Сравнительное изучение некоторых свойств “r” мутантов азотфиксирующих цианобактерий *Nostoc pruniforme* устойчивых к цианофагу NP-1T (5) // Труды Института микробиологии Национальной Академии Наук Азербайджана. -Баку, 2012. – Том 10, -№1. -С. 107-111.
39. Кадырова Г.Х. Изучение некоторых биологических особенностей местных солеустойчивых цианобактерий //Труды Института микробиологии Национальной Академии Наук Азербайджана. -Баку, 2012. – Том 10, -№1. - С.136-140.
40. Кадырова Г.Х. Изучение некоторых свойств “r” мутантов цианобактерий *Nostoc pruniforme* устойчивых к цианофагу NP-1T (5)// Сборник тезисов 16-й Международной Пущинской школы-конференции молодых ученых «Биология–Наука XXI Века». - Пущино (Россия), 16-21 апреля 2012 года. - С. 35.
41. Кадырова Г.Х. Идентификация и некоторые свойства азотфиксирующих цианобактерий *Anabaena variabilis* 21 в условиях засоления// Тезисы докладов V съезда микробиологов Узбекистана. –Ташкент, 2012. -С.21.
42. Кадырова Г.Х. Полифункциональные свойства азотфиксирующих цианобактерий в условиях зосоления // Тезисы докладов международной научно-практической конференции «Микробные биотехнологии: актуальность и будущее». - Киев (Украина), (Radostim-2012), 19–22 ноября, 2012. -С.130-131.
43. Кадырова Г.Х., Гулямова Т.Г. Азотфиксирующая активность симбиоза «цианобактерии - растение» в условиях засоления// Микробиология және Вирусология. -Алматы (Казахстан), 2015. - №1(8). -С. 56-68.
44. Кадырова Г.Х. Солеустойчивые местные штаммы сине-зеленых водорослей (цианобактерий) и возможности их использования в биотехнологии // Материалы конференции «Достижения, проблемы и перспективы агробиологии сельскохозяйственных культур». - Ташкент, - 2015. - С.144-145.
45. Кадырова Г.Х. Биовосстановление засоленных почв с помощью

солеустойчивых цианобактерий // Материалы международного симпозиума «MICROBIOS - 2015». - Ташкент, 2015. - С.65-66.

46. Кадырова Г.Х., Шакиров З.С. Изучение особенностей осморегуляции в местных штаммах цианобактерий *Anabaena variabilis* 21// Материалы VII международной научно практической конференции «Актуальные проблемы науки XXI века». - Москва (Россия), 2016. - I часть. – С.21-24.

47. Кадырова Г.Х. Спектр жирных кислот местных штаммов цианобактерий рода *Anabaena* // Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы биотехнологии: от лабораторных исследований к производству» в рамках III международных Фарабиевских чтений. - Алматы (Казахстан), 7-8 апреля 2016 г. - С.129-130.