

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

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

САФАРОВ ИБРОҲИМ ВАЛИЕВИЧ

**БИОДИЗЕЛЬ ОЛИШ УЧУН ЎЗБЕКИСТОННИНГ ЮҚОРИ
МАҲСУЛДОР ЛИПИД ҲОСИЛ ҚИЛУВЧИ МИКРОСУВЎТЛАРИ ВА
УЛАРДА ЁҒ БИОСИНТЕЗИ РЕГУЛЯЦИЯСИ**

03.00.12 – Биотехнология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент-2019

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Сафаров Иброҳим Валиевич

Биодизел олиш учун Ўзбекистоннинг юқори маҳсулдор липид ҳосил қилувчи
микросувўтлари ва уларда ёғ биосинтези регуляцияси.....3

Сафаров Иброҳим Валиевич

Высокопродуктивных липидпродуцирующих микроводорослей Узбекистана и
регуляция биосинтеза масел для получения биодизеля.....22

Safarov Ibrokhim Valievich

Highly productive lipid-producing microalgae of Uzbekistan and regulation of the
biosynthesis of oils for obtaining biodiesel.....42

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....45

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

МИКРОБИОЛОГИЯ ИНСТИТУТИ

САФАРОВ ИБРОҲИМ ВАЛИЕВИЧ

**БИОДИЗЕЛЬ ОЛИШ УЧУН ЎЗБЕКИСТОННИНГ ЮҚОРИ
МАҲСУЛДОР ЛИПИД ҲОСИЛ ҚИЛУВЧИ МИКРОСУВЎТЛАРИ ВА
УЛАРДА ЁҒ БИОСИНТЕЗИ РЕГУЛЯЦИЯСИ**

03.00.12 – Биотехнология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент-2019

**Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси
хузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2017.1.PhD/В41 рақам билан рўйхатга олинган**

Диссертация Микробиология институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме) Илмий кенгаш веб-саҳифаси microbio@academy.uz ва «ZiyoNet» ахборот таълим тармоғида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Шакиров Заир Саатович
биология фанлари доктори

Расмий оппонентлар:

Мирзарахметова Дилбар Тохтамуратовна
техника фанлари доктори

Ибодов Комил
биология фанлари номзоди, доцент

Етакчи ташкилот:

Ботаника институти

Диссертация химояси Микробиология институти ва Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги DSc.27.06.2017.В.38.01 рақамли Илмий кенгашининг 2019 йил «.....» январь куни соат ____ даги мажлисида бўлади. Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоҳур тумани, А.Қодирий кўчаси 7 б-уй, Микробиология институти мажлислар зали, 3-қават Тел.:(+99871) 241-92-28, факс:(+99871) 241-92-71; e-mail: microbio@academy.uz.

Диссертация билан Микробиология институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№__ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100128, Тошкент ш., Шайхонтоҳур тумани, А.Қодирий кўчаси 7 б-уй, Микробиология институти маъмурий биноси, 5-қават. Библиотека. Тел.:(+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, факс:(+99871) 241-92-71.

Диссертация автореферати 2019 йил «_____» куни тарқатилди.

(2019 йил «_____» _____ рақамли реестр баённомаси).

Арипов Тахир Фатихович

Илмий даража берувчи Илмий кенгаш раиси
б.ф.д., профессор, академик

Жураева Рохила Назаровна

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

Гулямова Ташхан Гафуровна

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

Кириш (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Дунёда энергетиканинг асосий қисми қазиб олинган ёқилғиларга – нефт, кўмир ва газга асосланганлиги сабабли энергия манбаларига бўлган эҳтиёж йил сайин ортиши натижасида уларнинг захиралари камайиб бормоқда. Таъкидлаш жоизки, узоқ вақт давомида барқарор энергия ишлаб чиқаришни таъминлайдиган муқобил қайта тикланадиган энергия манбаларига бўлган қизиқиш ортиб бормоқда. Микросувўтлари бошқа ёғ ҳосил қилувчи ўсимликларга, масалан, кунгабоқар, соя, кокос, пахта ва бошқаларга нисбатан бир хил ҳажмдаги ер майдонидан 30 ёки ундан кўп марта кўпроқ ёғ ишлаб чиқариши мумкин. Бундан ташқари, улар деярли ҳамма жойда ўсиши мумкин (сувда, ўрмонда, тоғларда, қорда, илиқ иқлимда) уларнинг яшаши учун сув зарур (оқова ҳатто канализация суви), шу жумладан, кўёш нури, CO₂ ва минерал тузлар талаб қилинади. Шу сабабли, микросувўтларнинг ўсиш шароитларини оптималлаштириш биоёқилғи ишлаб чиқариш учун қайта тикланадиган хом-ашё олишда муҳим аҳамиятга эга.

Жаҳонда микросувўтларнинг физиологиясини ва нейтрал липидлар биосинтезини аниқлаш ҳамда лаборатория ва саноатда ушбу организмларни етиштиришда метобализмини бошқариш борасида илмий ишлар олиб борилмоқда. Бу борада, микросувўтларидан липидлар, витаминлар, антиоксидантлар ва биологик фаол хусусиятларга эга моддаларни олиш, микросувўтларни ўстириш шароитлари оптималлаштириш, фаол штаммларни ажратиш олиш, штаммлар хужайраларида ёғ биосинтези регуляциясини аниқлаш, ишлаб чиқаришда фойдаланиладиган истиқболли штаммларнинг биосинтетик потенциалини ошириш учун фитобиотехнологияларни яратиш, юқори маҳсулдор биомасса ва липид ҳосил қилувчи микросувўтларини ажратиш ва танлаш, улар асосида биодизел ишлаб чиқариш учун уларнинг биотехнологиясини яратиш истиқболли манбалардан ҳисобланади. Шу сабабли, юқори маҳсулдор липид ҳосил қилувчи микросувўтлари ва уларнинг ёғларидан биодизел ишлаб чиқиш муҳим илмий амалий аҳамиятга эга.

Республикамизда микросувўтларни ўстириш учун катта табиий ресурсларга ва иқлим шароитларига эга, жумладан, қайта тикланувчи ёқилғи, биодизел ва биоэтанол олиш борасида чора-тадбирларни ишлаб чиқиш ва амалиётга жорий қилишга алоҳида эътибор қаратилмоқда, шунингдек юқори миқдорда липид ҳосил қилувчи маҳаллий микросувўтлари штаммларини ажратиш, танлаш борасида муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «...қайта тикланадиган энергия манбаларидан фойдаланишни кенгайтириш, ишлаб чиқаришнинг энергия зичлигини пасайтириш, маҳаллий илмий-техник ишланмаларни мақсадли амалга ошириш ва илғор халқаро энергия тежайдиган технологияларни ўрганиш, амалга ошириш, бу соҳадаги устувор йўналишларни белгилаш¹» вазифалари белгилаб берилган.

Мазкур вазифаларини амалга оширишда, жумладан қайта тикланувчи муқобил энергия манбаи бўлган, липид ҳосил қилувчи микросувўтларини

¹Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси» тўғрисида ги Фармони

излаш ва скрининг қилиш, хужайраларида ёғ биосинтези регуляциясини аниқлаш амалий ва экологик муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 26 майдаги ПҚ 3012-сон «2017 — 2021 йилларда қайта тикланувчи энергетикани янада ривожлантириш, иқтисодиёт тармоқлари ва ижтимоий соҳада энергия самарадорлигини ошириш чоратадбирлари дастури тўғрисида»ги қарори, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 21 майдаги ЗРУ-539 «Қайта тикланадиган энергия манбаларидан фойдаланиш тўғрисида» ги Фармони, ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

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

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ривожланган мамлакатларда хусусан Япония, Исроил, Болгария, Мексика, АКШ, Германия, Россия каби давлатларда микросувўтлари ёғларидан биодизель олиш технологиялари кенг ўрганилган. Бундан ташқари, дунёдаги етакчи илмий марказларда ва университетларда биодизел ишлаб чиқариш учун липид ҳосил қилувчи микросувўтларини танлаш бўйича тадқиқотлар олиб борилмоқда, жумладан, А. Ben-Amotz (2004), Y. Chisti (2008), H.C. Greenwell et al., (2010), J.K. Pittman et al., (2011), D. Sasi et al., (2011), Ronald H. (2012), Соловченко А. Е. (2012), M.J. Barbosa and R.H. Wiffels (2013), Kumar R.R. (2015), С.А. Нагорнов и Ю.В. Мещерякова (2015), E.M. Fakhry and D.M.E.Maghraby (2015), M. Sakarika and M.Kornaros (2016), N. Mallick et al., (2016).

Республикамызда А.М.Музафаров(1970), Х.А.Бердикулов (1980), М.А.Қўчқаров (1990) ларнинг тадқиқотлари дарё алгофлорасини ўрганиш, сув ҳавзаларининг санитар ҳолатини сапранит турларининг кўрсаткичлари билан баҳолаш ишларига бағишланган М.Мурадов (1990), Г.Х.Қодирова (2000) илмий ишлари фаол азотфиксацияловчи кўк-яшил сувўтларини ажратиш ва скрининг қилиш, улар асосида қишлоқ хўжалигида фойдаланиш учун биопрепаратлар яратишга бағишланган. Шунини таъкидлаш керакки, ёғ кислотаси таркиби, стресс омиллари таъсирида липидлар синтези ошиши ва Ўзбекистоннинг юқори самарали микросувўтлари липидларидан биодизел ишлаб чиқариш тўғрисида деярли маълумотлар йўқ.

Тадқиқотнинг диссертация бажарилган олий таълим ёки илмий-тадқиқот муассасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Микробиология институти илмий-

тадқиқот ишлари режасининг ФА-Ф6-Т328 «Биодизель олиш учун Ўзбекистоннинг липид ҳосил қилувчи юқори маҳсулдор микросувўтлари ва ционабактерияларини излаб топиш ва уларда ёғлар биосинтези регуляцияси» (2012-2016) мавзусидаги фундаментал лойиҳаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади Ўзбекистоннинг турли ҳудудлари сув наъмуналаридан ажратилган маҳаллий микросувўтлари штаммларининг липидлар синтези потенциалини аниқлаш ва лаборатория шароитида микросувўтлари ёғларидан биодизел олишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

турли экосистемалардан маҳаллий микросувўтларни излаш, ажратиш, уларнинг ўсиши ва ривожланиши, маҳсулдорлиги бўйича танлаб олиш;

микросувўтларининг морфологик–культурал хусусиятларига кўра ва 18S RNA гени бўйича маҳаллий самарадор штаммларини идентификациялаш;

микросувўтларининг ўсиши-ривожланиши ва липидлар ҳосил қилиши учун оптимал шароитларни танлаш;

микросувўтлари хужайраларида ёғ синтези индукциясига стресс омилларнинг (шўрланиш, рН кўрсаткичи, азот танқислиги) таъсирини таҳлил қилиш;

юқори самарадор микросувўтлари ёғ кислоталарининг микдорий ва сифат таркибини аниқлаш;

микросувўтларидан ёғ олишнинг иқтисодий самарадорлигини аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти турли сув ҳавзаларидан ажратилган маҳаллий *Scenedesmus*, *Chlorococcum*, *Coelastrum*, *Chlamydomonas*, *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Asterococcus* ва *Pediastrum* авлодига мансуб микросувўтлари штаммлари ҳисобланади.

Тадқиқотнинг предмети юқори маҳсулдор липид ҳосил қилувчи микросувўтлари ва уларнинг биодизел ишлаб чиқаришдаги аҳамиятидан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқотларни бажариш жараёнларида биотехнологик, алгологик, микробиологик, физиологик ва кимёвий усулларидан фойдаланилган.

Тадқиқотининг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

Ўзбекистоннинг турли сув ҳавзалари сув наъмуналаридан фаол *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlorococcum*, *Botryococcus*, *Chlamydomonas*, *Pediastrum*, *Coelastrum*, *Stichococcus*, *Asterococca* авлодига мансуб 164 та микросувўтлари штаммлари ажратиб олинган, уларнинг морфологик-культурал хусусиятлари аниқланган;

18S рРНК генлари нуклеотидлари кетма-кетлиги орқали фаол *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Scenedesmus armatus* UT39 ва *Ankistrodesmus falcatus* UT20 микросувўтларини идентификация қилинган ва ДНК таҳлиллари асосида уларнинг филогенетик дарахти тузилган;

культураларнинг ёғ кислоталари ва триглицеридлари ИҚХ R_f анализи натижаларига кўра таққосланганда пахта ёғи билан ўхшаш эканлиги ва

хроматография натижасида умумий липидлар таркибида триглицеридлар R_f миқдори устунлик қилиши асосланган;

илк бор спектрохроматографиясига кўра уларнинг таркибида 7-17 тагача ёғ кислота компонентлари мавжуд бўлиб, уларнинг асосийлари гексодекан ёки полмитин кислотаси (16:0) 25.0 % дан 39.43 % гача, бундан ташқари сезиларли даражада 5.44 % дан 14.12 % гача стеарин ёки октадекан (18:0) кислоталари, тўйинмаган кислоталар октадецен (18:1) ва альфа-октадекатриен кислоталарининг миқдори 36,64% дан 53,75% гача бўлиши исботланган;

илк бор *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 маҳаллий микросувўтлари хужайраси таркибидан қуруқ биомассага нисбатан 59,7% липидлар олинган, липидларни переэтрификациялаш орқали 67,3% биодизел ишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

маҳаллий микросувўтларининг *Ch.macrostigmatum* UT4, *Ch.macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus* sp.29 ва *Scenedesmus* sp.37, *Chlorella* sp.2, *Scenedesmus armatus* UT39, *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Coelastrummicroporum* UT1, *Pediastrum tetras* UT2, *Ankistrodesmusfalcatus* UT20 коллекцияси яратилган;

микросувўтлари штаммлари Республикамизда биодизел ёқилғиси ишлаб чиқариш учун юқори потенциал липид ишлаб чиқарувчи эканлиги асосланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Экспериментал натижаларни замонавий микробиологик, алгологик, биокимёвий ва молекуляр биологик усуллари ёрдамида олинганлиги, натижаларни қайта ишлаш Стьюдент мезонлари ва Фишер дисперсион таҳлили (ANOVA) ёрдамида статистик ишлов берилганлиги, шунингдек диссертация натижаларининг нашр этилиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти Ўзбекистоннинг турли сув ҳавзалари сув намуналаридан липид ишлаб чиқарувчи маҳаллий микросувўтлари штаммлари ажратилган ва идентификацияланган, уларнинг ёғлари таркибида 7 дан 17 гача ёғ кислоталари мавжудлиги аниқланган, ушбу ёғларнинг 44,84% тўйинган ёғ кислоталари ва 55,16% тўйинмаган ёғ кислоталаридан иборат эканлиги ва уларнинг биодизел ишлаб чиқаришдаги ролини асосланганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти маҳаллий микросувўтлари штаммлари липидлар олиш учун истиқболли объект бўлиб, Республикамизда биодизел ишлаб чиқаришда асос бўлиб хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Микросувўтларидан юқори миқдорда биомасса ва липидлар олишнинг илмий натижалар асосида:

Ўзбекистоннинг турли сув ҳавзаларидан йиғилган альгологик тоза сувўтлари намуналари 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” лойиҳасида сув ҳавзалари ва

тупроқ гидробионтлари қаторида аниқлашда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2018 йил 2 майдаги 4/1255-1140-сон маълумотномаси). Натижада сув ҳавзаларида гидробионтлари рўйхати тузишда, уларни экологик хусусиятларини аниқлашга оид маълумотларни таҳлил этиш имконини берган;

юқори даражада биомасса ва липид ҳосил қилувчи *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 штамми очик ва ёпиқ тизимли ўстириш ҳавзаларида саноат асосида кўпайтириш орқали хўл биомасса етиштириш амалиётига жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Муқобил ёқилғи ва энергия корхоналари ассоциациясининг 2018 йил 10 майдаги 494-сон маълумотномаси). Натижада мазкур биомассадан 558 кг куруқ биомасса ҳамда унинг таркибидан 259,4 кг липид ҳосил қилишини аниқлаш имконини берган;

переэтерификация усули орқали 5 литир триглицерид ажратиб олинган ва 20% микдорда дизель ёқилғисига аралаштирилиб «Kingchai - KC168F» маркали сув кўтариш насосининг ишлаш жараёнига жорий этилган (Ўзбекистон Республикаси Муқобил ёқилғи ва энергия корхоналари ассоциациясининг 2018 йил 10 майдаги 494-сон маълумотномаси). Натижада дизель ёқилғисига 20% микдорида фойдаланилганда, иқтисодий самарадорлиги амалдаги дизель ёқилғисидан 2% гача ошириш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 7 та, жумладан 4 та халқаро ва 3 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 16 та илмий ишлар чоп этилган, шулардан 8 таси Ўзбекистон Республикасининг Олий аттестация комиссияси докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда, жумладан 7 таси республика ва 1 таси хорижий илмий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, олти боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловадан иборат. Диссертациянинг ҳажми 118 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари асосланган, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «Қайта тикланадиган муқобил энергия манбалари» деб номланган биринчи бобида микросувўтларининг тарқалиши ва таксономияси, липидлар индукцияси ва биосинтези, биоёқилғи ишлаб чиқаришнинг ўсиш кўрсаткичлари, биомассани қайта ишлаш орқали энергия ишлаб чиқариш технологиялари келтирилган. Микросувўтлари қайта тикланадиган ёқилғи шу жумладан биодизел ва биоэтанол олиш учун манба бўлиши мумкинлиги кўрсатилган.

Диссертациянинг "Бир хужайрали яшил сув ўтларининг хусусиятларини ўрганиш ва тажриба синовларини ўтказиш усуллари" номли иккинчи бобида тадқиқот ишида ишлатиладиган микросувўтлари, тадқиқот усуллари, асбоблар, жихозлар, алгологик, биотехнологик ва физиолого-кимёвий анализ усуллари келтирилган.

Диссертациянинг "Ўзбекистон худудидаги бир хужайрали яшил сувўтлари" номли учинчи бобида Ўзбекистоннинг минтақаларидан олинган сув манбаларидан ажратилган 164 та микросувўтларининг ўсиш динамикасини ўрганиш бўйича маълумотлар келтирилган.

Уларнинг морфологик-культурал хусусиятларига кўра АК1, АК2, АТ3, АС4 изолятлари *Chlorellaceae* оиласи, *Chlorelloideae* туркумига, *Chlorella* турига мансублигини кўрсатди (1-расм). *Chlorella* авлоди культураларининг хужайралари шарсимон, якка холда учравчи, камдан-кам холларда калония ҳолатида бўлиши аниқланган. *Chlorella* sp 4 хужайрасининг ўлчами 2,5 -10 мкм (1а расм).

ГТ4, ГС8, ГС10, ГС11, ГК19, ГК20 изолятлари хужайрасининг таксономик тадқиқоти *Chlorococcaceae* оиласи, *Chlorococcum* турига мансублигини кўрсатди. Микросувўтлари хужайраси битта, шарсимондан эллипссимонгача баъзан, намолум шаклдаги колония ҳосил қилади. *Chlorococcum* ГТ4 морфологик-культурал хусусиятларига кўра *Chlorococcum macrostigmatum* УТ4. авлодига тегишли эканлиги аниқланди.

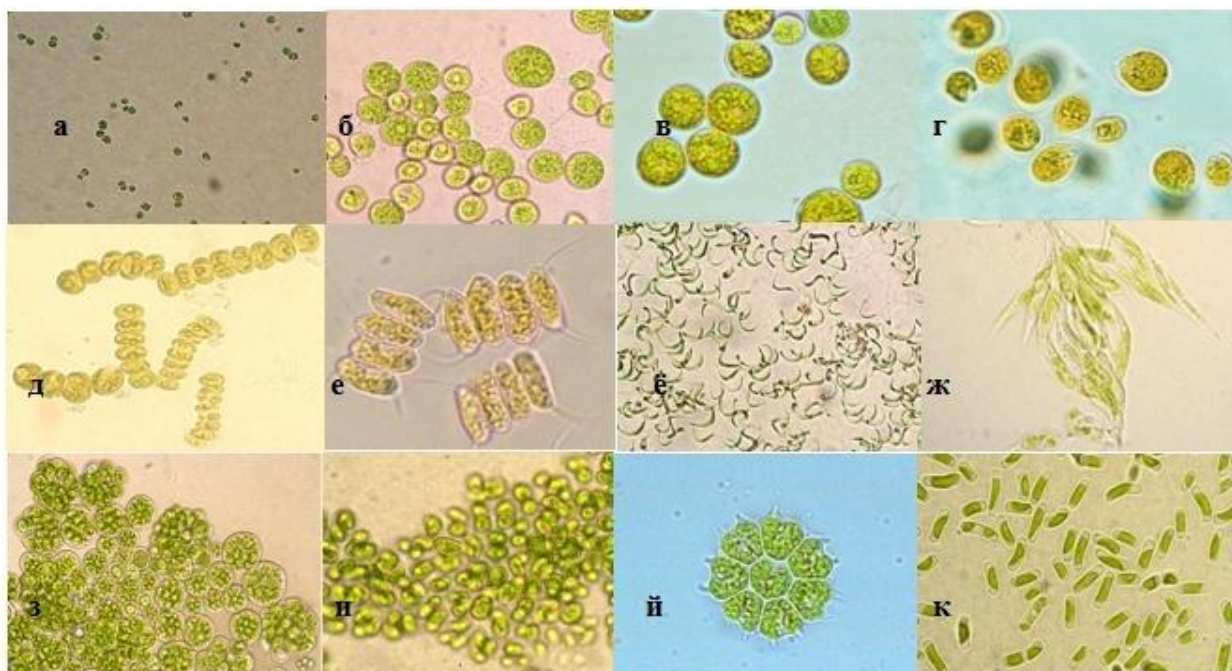
Морфологик белгиларига кўра БТ4, БН7, БК18, БК25, БТ29, БТ39, БС40 *Scenedesmaceae* оиласига, *Scenedesmoideae* туркумига, *Scenedesmus* авлодига киради. *Scenedesmus* авлоди культуралари, тўғри ёки озгина қайрилган, бир ёки икки қаторли 2, 4, 8, 16 2, 4, 8, 16, баъзан эса 32 хужайралардан ташқил топган, бир-бирига нисбатан параллель ёки кетма-кет уланган, умумий морфологик параметрларига кўра БТ 39 изоляти *Scenedesmus armatus* УТ39 турига мансуб эканлиги аниқланди (1д-расм).

Микросувўтларининг ВК2, ВТ7, ВС15, ВТ20 изолятлари *Ankistrodesmaceae* оиласи, *Ankistrodesmoideae* туркуми, *Ankistrodesmus* авлодига мансуб эканлиги аниқланди. *Ankistrodesmus* авлоди колониялари турли хил тароксимон, кўпинча марказий қисми билан бирлашган, камдан-кам холатларда бир хужайрали, баъзан якқол кўринмайди. Хужайралари чўзилган, тўғри ёки бурама, урчуксимон, игнасимон ва цилиндрсимонгача оз-моз қайрилган, учлари аста секин ингичкалашади ва найзасимон бўлади. ВТ 20 изоляти *Ankistrodesmus falcatus* УТ20 авлодига мансуб эканлиги аниқланди

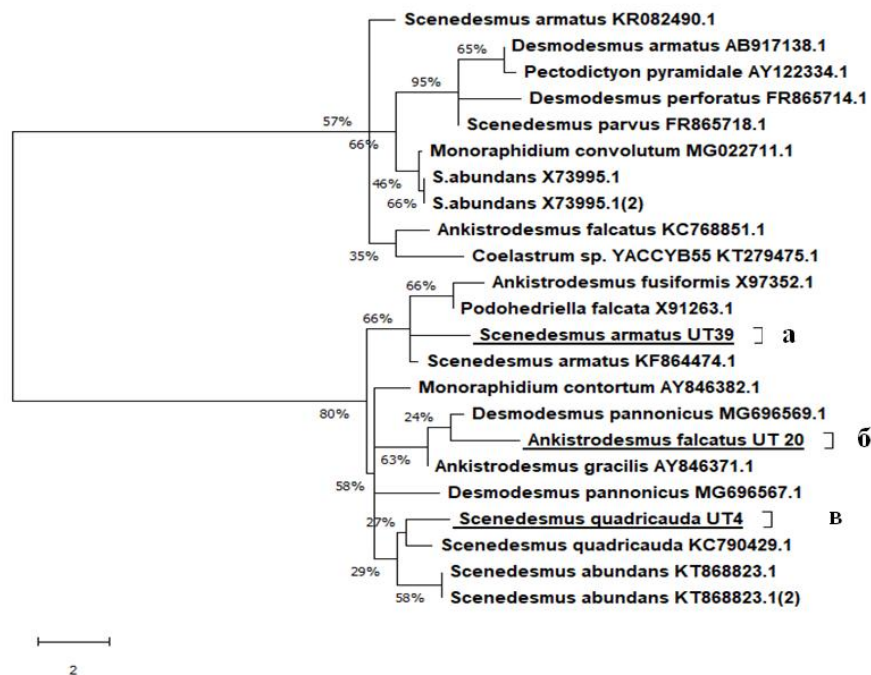
(1ё-расм). Культураларнинг колониялари 2-4 хужайрадан иборат. Хужайралар ўлчами 22 - 62 x 1,2 - 4,3 мкм.

Бундан ташқари, маҳаллий самарадор микросувўтлари *S. quadricauda* UT4, *S. armatus* UT39, *A. falcatus* UT20, штаммларининг таксономик ҳолатини тасдиқлаш учун биз 18S rRNA гени асосида идентификация қилдик. Олинган натижалар асосида ўрганилаётган микросувўтларининг филогенетик дарахти яратилди (2-расм).

Шундай қилиб, биринчи марта *Senedesmus*, *Chlorococcum*, *Coelastrum*, *Chlamydomonas*, *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Asterococcus* ва *Pediastrum* авлодининг маҳаллий маҳсулдор микросувўтлари штаммлари Ўзбекистоннинг турли сув наъмуналаридан ажратиб олинди. **Тўртинчи бобда** «маҳаллий микросувўтларнинг ўсиш ва ривожланиш шароитларини оптималлаштириш» ҳарорат, рН, CO₂, ва ёруғлик интенсивлигининг шунингдек, азотли тузларнинг концентрациялари микросувўтларининг ўсиши ва ривожланишига таъсир кўрсатади.



1-расм. Маҳаллий фаол микросувўтлари штаммларининг ёруғлик микроскопияси (а) *Chlorella* sp.4, (б) *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, (в) *Ch. macrostigmatum* UT8, (с) *Chlamydomonas reinhardtii* UT5, (д) *Scenedesmus armatus* UT39, (е) *Scenedesmus quadricauda* UT4, (ё) *Ankistrodesmus falcatus* UT20, (ж) *Ankistrodesmus angustus* UT15, (з) *Coelastrum microporum* UT4, (и) *Botryococcus* sp.14, (й) *Pediastrum tetias* UT1, (к) *Stichococcus bacillaris* UT1

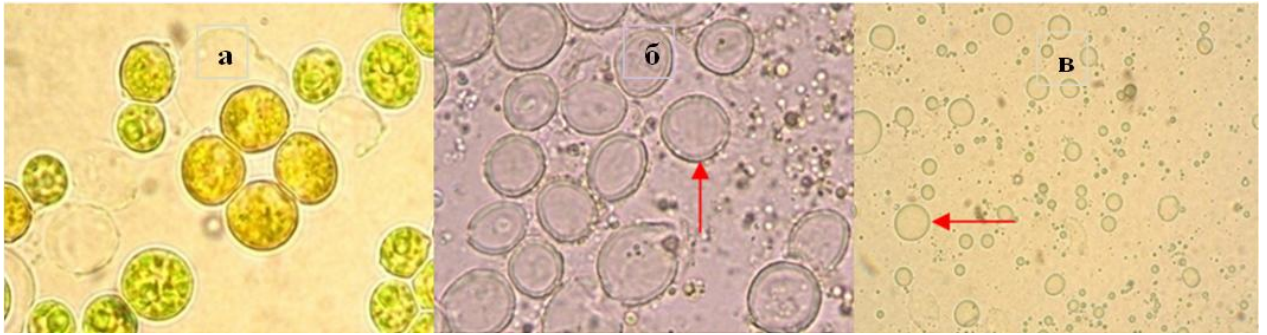


2-расм.18S рРНК гени тадқиқотлари натижаларига асосланган бир хужайрали микросувўтларининг шажара дарахти: а-*Scenedesmus armatus* UT39, б-*Anristrodesmus falcatus* UT20, в-*Scenedesmus quadricauda* UT4.

Микросувўтларининг ўсиши-ривожланиши, биомасса ва липид ҳосил қилиши маҳсулдорлигига ҳароратнинг таъсирини ўрганиш учун маҳаллий микросувўтлари штаммлари «Чу-13» суюқ озуқа мухитида ўстирилди. Тадқиқот натижасида *Ch. macrostigmatum* UT4, штамми 28°C да юқори миқдорда биомасса (1,65-2,78 г/л) ва липид (41,8- 57,6%) ҳосил қилиши, *S. quadricauda* UT4, микросувўти штамми 26°C да 128 - 2,294 г/л биомасса ҳосил қилиши аниқланди.

Бундан ташқари, рН кўрсаткичлари, карбонат ангидрид (CO₂) концентрацияси ва ёруғлик интенсивлиги (1500 Люкс, 3000 Люкс, 4500 Люкс,) таъсирини ўрганилганда, микросувўтлари рН-7,0, 2% CO₂ да кўп миқдорда биомасса ва липид ҳосил қилиши аниқланди. 4500 Люкс ёруғликда азотнинг (KNO₃) оптимал концентрациясини аниқлаш учун 14 кун давомида таркибида 0,1%, 0,3%, 0,5% KNO₃ бўлган «Чу-13» озуқа мухитида микросувўтлари ўстирилганда. Уларнинг интенсив ўсиши ва хужайраларида липидларнинг тўпланиши учун азот 0,1% эканлиги аниқланди.

Шуни такидлаш керакки, *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 культураларида ёғлар синтезиюқори маҳсулдорлиги 30 кун давомида оптимал шароитларда ўстирилган кузатилди. Ёруғлик микроскопидакузатилганда культураларнинг хужайралари тўқ сариқ рангда эканлиги кузатилди, хужайралар майдаланганда ёғлар эмулсия кўринишида пайдо бўлди (3-расм).



3-расм *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 микросувўтининг ёруғлик микроскопияси (а), бўш қобик (б) ва хужайрадаги ёғ томчилари (в).

Диссертациянинг бешинчи «бобида стресс омиллар таъсирида микросувўтлар хужайрасида ёғ синтези регуляцияси», стресс шароитларда (азот танқислиги, шўрланиш, pH кўрсаткичлари) инкубация қилиш орқали ёғлар миқдорини ошириш имкониятлари ўрганилди.

Тадқиқот жараёнларида *Ch. Macrostigmatum* UT4, *S. quadricauda* UT4, *S.armatus* UT39 ва *A. falcatus* UT20 микросувўтлари «Чу-13» мухитида 7 кун давомида оптимал шароитларда ўстирилди. Ушбу культуралар азотсиз мухитга ўтказилиб, 72 соат давомида инкубация қилинди. Тажриба натижалари шуни кўрсатдики, *Ch.macrostigmatum* UT4 хужайраларида липид ҳосил бўлишининг максимал даражаси 60 соат инкубация қилинган вақтда аниқланди ва қуруқ биомассанинг 59% ни ташкил қилди (4а расм).

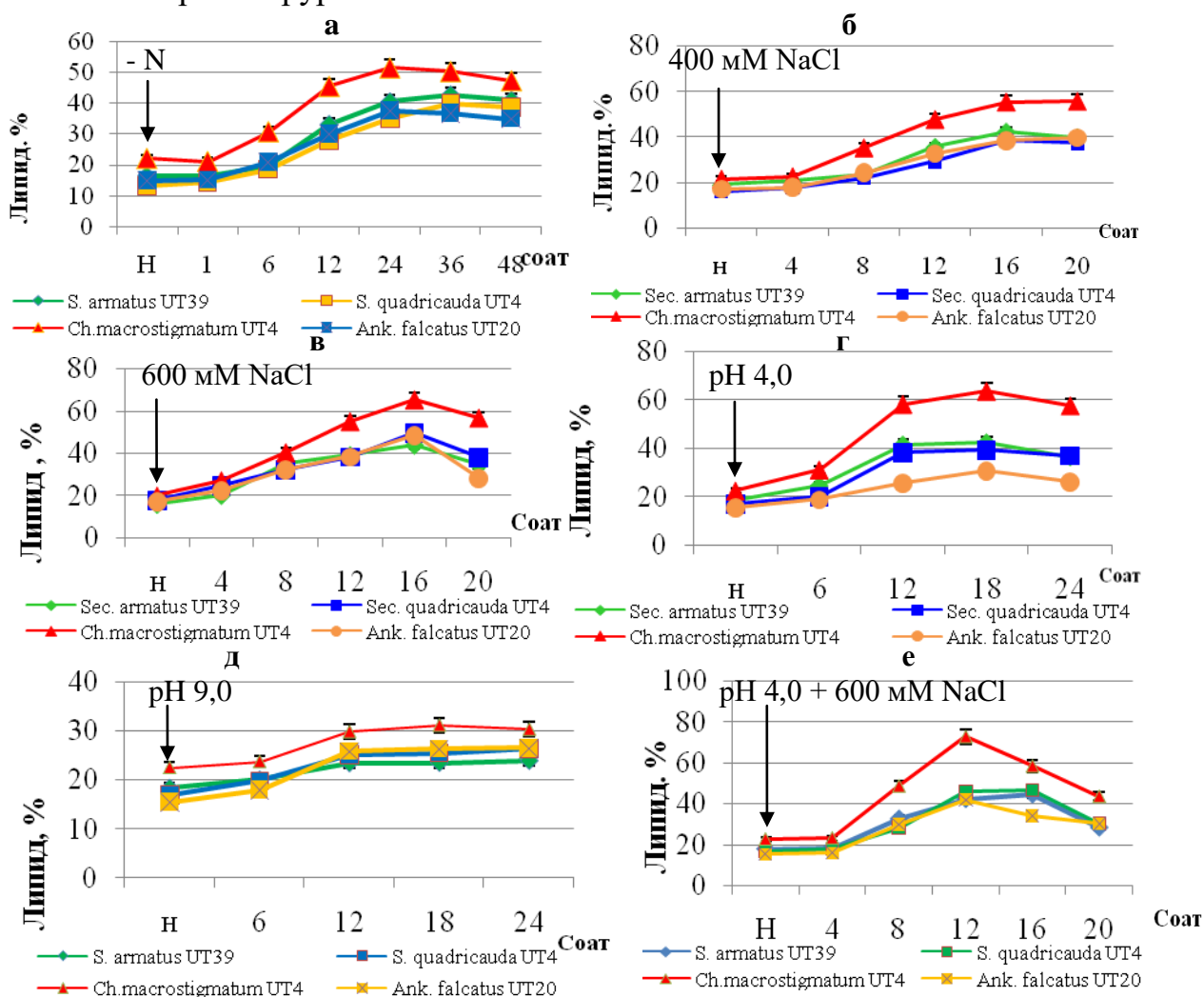
Тадқиқотнинг кейинги босқичида шўрланиш шароитининг микросувўтларида липид синтезининг индукциясига таъсири ўрганилди. Ўрганилаётган культуралар 400 ва 600 mM натрий хлоридли озуқа мухитида ўртача 20 соат давомида инкубация қилинди. Максимал ёғ синтези культураларни шўрланиш шароитида 16 соат давомида инкубация қилинганда 400 mM NaCl да 38% дан 54% гача, 600 mM NaCl бўлган озуқа мухитида қуруқ биомассанинг 42% дан 64% гача (4б,в-расм) ёғ ҳосил бўлиши кузатилди.

Бундан ташқари, ўрганилаётган культураларни pH 4.0 ва pH 9.0 бўлган шароитда инкубация қилиш жараёнида, культураларни pH 4.0 бўлган шароитда 18 соат инкубация қилинганда липид синтези кучайганлиги аниқланди (4д-расм). Культуралар pH 9.0 га тенг бўлган стресс шароитда инкубация қилинганда липид синтези ортмаганлиги кузатилди (4е-расм).

Микросувўтларнинг хужайраларида липид ҳосил бўлишини фаоллаштириш учун биз бир вақтнинг ўзида икки хил стресс омилнинг таъсирини ўргандик шўрланиш (600 mM NaCl) ва pH 4.0 бўлган шароитда культуралар 20 соат давомида инкубация қилинди, барча ўрганилаётган культуралар учун 12 соатлик инкубация даврида липид синтезининг индукцияси кузатилди. Икки хил стресс омилнинг таъсирида *Ch.Macrostigmatum* UT4 штаммида липидларнинг максимал ҳосил бўлиши азот танқислиги, шўрланиш, pH кўрсаткичлари каби бошқа стресс омилларига

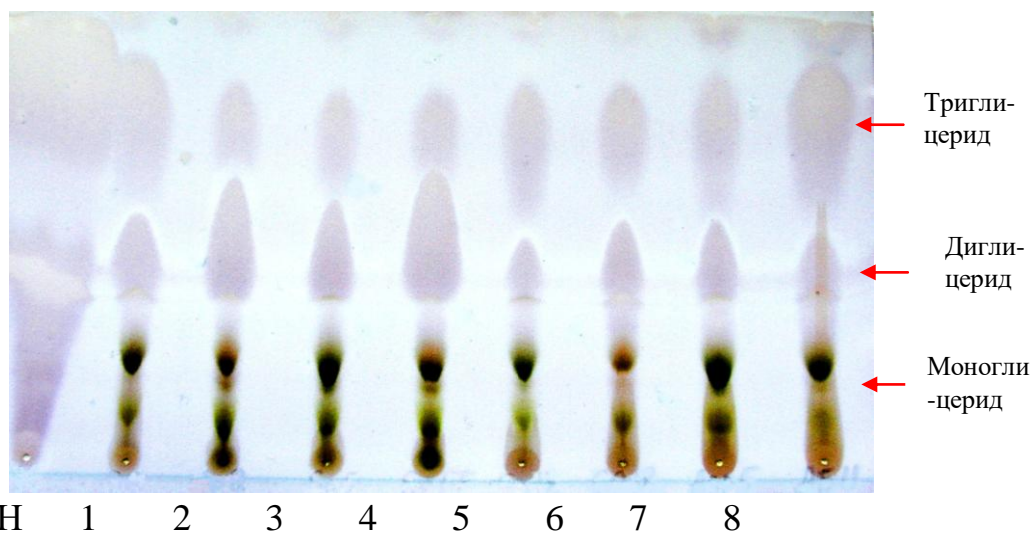
караганда анча юқори миқдорда бўлиши ва куруқ массанинг 72 %ни ташкил этиши кузатилди (4е-расм).

Шуни такидлаш керакки, ТАГ ҳосил бўлиши учун стресс шароитлари қулай саналади. Улар ҳужайра бўлинишига тўсқинлик қилади ва культуралар кўпайишини секинлаштиради, Ушбу муоммани ҳал қилишнинг мақбул усулларида бири бу иккита жараёнга бўлишдир: 1-босқич – юқори биомасса олишни таъминлайдиган тўлиқ озукавий муҳитда биомассанинг ҳосил бўлиши ва ўстириш шароитлари. 2-босқич-минерал озика элементларининг етишмаслиги натижасида юзага келган стресс шароитида нейтрал липидлар (ТАГ) синтезини кучайтириш учун ҳосил бўлган биомассанинг конверсиясини амалга ошириш зарур.



4-расм.стресс шароитларда инкубация қилинганда ёғлар миқдори: а) азотсиз озукa муҳитида, б) вақт оралиғида 400 mMNaCl ли шўрланишда в)вақт оралиғида 600 mMNaCl ли шўрланишда, г) pH-4.0 бўлган стресс шароитда микросувўтларининг вақт оралиғида липид ҳосил қилиши, д) pH-4.0 бўлган стресс шароитда микросувўтларининг вақт оралиғида липид ҳосил қилиши, е) маҳаллий микросувўтларининг икки хил стресс шароитининг (pH-4,0 + 600mMNaCl) бир вақтда таъсирида вақт оралиғида липид ҳосил қилиши.

ва сифат таркиби, культураларни турли хил фотобиореакторларда ўстириш ва лаборатория шароитида микросувўтларининг липидларидан биодизел олиш тўғрисида маълумотлар келтирилган. *Ch. macrostigmatum* UT4, *Ch. macrostigmatum* UT8, *Chlorococcum* sp.39, *S.armatus* UT39, *S. quadricauda* UT4, *C.reinhardtii* UT11, *A. falcatus* UT20, *C.microporum* UT1 микросувўтлари культуралари штаммларининг липидлар таркиби юпқа қатламли хроматографияси ўрганилгандахроматография натижаларига кўра микросувўтлар ва пахта ёғи моноглециридлари бир хил (масофада) R_f да жойлашган бўлиб 15 мм ташкил қилди, диглициридлар ва триглицеридлари эса мос равишда 25 мм ва 45 мм ташкил қилди. Шундай қилиб, культураларнинг липидлари R_f юпқа қатламли хроматографик қиёсий таҳлили пахта ёғи R_f билан ўхшашлигини кўрсатди (5-расм).



5-расм. маҳаллий микросувўтларининг липидларининг юпқа қатламли хроматографияси: К – пахта ёғи, 1- *Ch. macrostigmatum* UT4, 2- *Ch. macrostigmatum* UT8, 3-*Chlorococcum* sp.39, 4- *S. armatus* UT39, 5-*S. quadricauda* UT4, 6- *Chlamydomonas reinhardtii* UT11, 7-*Ank. falcatus* UT20, 8- *Coelastrum microporum* UT1.

Бундан ташқари, маҳаллий микросувўтларининг ёғ кислоталар таркибини ўрганиш жараёнида *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus acutus* UT1, *Scenedesmus quadricauda* UT4 15 та компонентдан иборат эканлиги аниқланди. Уларнинг асосий қисми пальмитин кислотаси (16:0) 25.0 % дан 39.43 % гача, стеарин кислотаси (18:0) ҳам сезиларли даражадакўп эканлиги 5.44 % дан 14.12% гача бўлиши аниқланди. Тўйинмаган ёғ кислоталари орасида октадецен (18:1)+альфа-октадекатриенкислоталари миқдори устунлик қилади ва 36.64% дан 53.75% гача, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8 култураларида линолеин кислотасининг (18:2) улиши энг кам миқдорда бўлиши аниқланди (1-жадвал).

14 кун ўстирилган микросувўтларининг ёғ кислоталарининг сифат ва миқдорий таркиби

Микросувўтлари Ёғ кислоталари	<i>Ch. macrostigmatum</i> UT4, %	<i>Ch. Macrostigmatum</i> UT8, %	<i>Scenedesmus armatus</i> UT39, %	<i>Scenedesmus quadricauda</i> UT4,%
Додеканкислотаси 12:0	1,05	0,73	0,26	-
Тетрадекан кислотаси 14:0	2,21	1,75	0,75	1,48
Пентадекан кислотаси 15:0	0,60	0,58	0,23	-
Гексадецен кислотаси 16:1	29,81	33,05	25,00	39,43
Пальмитин кислотаси 16:0	0,56	0,77	0,31	-
Гептадекан кислотаси 17:0	9,75	14,12	6,28	5,44
γ- октадекатриен кислотаси 18:3	0,63	0,93	0,35	0,56
Стеаридон кислотаси 18:4	0,23	0,37	Сл.	-
Линолейн кислотаси 18:2	0,59	0,27	Сл.	-
Олеин, α- линолен кислотаси 18:1, 18:3	41,87	36,64	53,75	38,86
Стеарин кислотаси 18:0	11,23	9,24	10,82	11,57
Эйкозен кислотаси 20:1	0,32	0,24	0,56	0,63
Эйкозан кислотаси 20:0	0,59	0,43	0,81	1,28
Докозан кислотаси 22:0	0,56	0,88	0,88	0,75
∑ тўйинган ЁК	44,84	52,3	33,18	46,91
∑ тўйинмаган ЁК	55,16	47,7	66,82	53,09

Микросувўтлар ёғ кислоталари сифати ва миқдорини вақтига нибатан боғлиқлигини аниқлаш учун *Scenedesmus quadricauda* UT4 ва *Scenedesmus armatus* UT39; 14, 21 ва 30 кун давомида ўстирилди. Вақт оралиғида 14, 21 ва 30 кун ўстириш *Scenedesmus armatus* UT39 культурасининг ёғ кислоталари сифат таркибига сезиларли таъсир кўрсатмаслиги аниқланди. Вақт оралиғида ўстириш *Scenedesmus quadricauda* UT4 ва *Scenedesmus armatus* UT39 культураларининг липидлари сифат таркибига жиддий таъсир кўрсатмаслиги, ёғ кислоталари таркибидаги миқдорий ўзгаришлар аниқланди. 2-жадвалдан кўриниб турибдики, 14 кун давомида ўстирилган *Scenedesmus quadricauda* UT4 культурасининг таркибидаги тўйинган ёғ кислоталарининг умумий миқдори 41,13%, 30 кун ўстирилганда 47,92%, яъни тўйинмаган ёғларнинг умумий миқдори 6,8% га кўпайди, тўйинган ёғ кислоталари умумий миқдори 6,8% га камайди.

Микросувўтлари ёғ кислоталарининг сифат ва миқдорий таркиби вақтга боғлиқлиги

Микросувўтлари Ёғ кислоталари	<i>Scenedesmus quadricauda</i> , UT4, %			<i>Scenedesmus armatus</i> UT39, %		
	14кун	21кун	30 кун	14 кун	21кун	30 кун
Додеканкислотаси 12:0	0,59	0,32	0,38	0,33	0,26	0,24
Тетрадекан кислотаси 14:0	1,67	2,05	2,49	0,91	0,84	0,95
Пентадекан кислотаси 15:0	0,50	0,57	0,54	0,33	0,30	0,28
Гексадецен кислотаси 16:1	0,46	0,22	0,53	0,40	0,35	0,35
Пальмитин кислотаси 16:0	32,40	33,46	35,79	30,82	30,42	30,08
Гептадекан кислотаси 17:0	0,33	0,35	0,43	0,33	0,32	0,35
γ- октадекатриен кислотаси 18:3	1,74	1,28	0,44	3,11	3,37	2,47
Стеаридон кислотаси 18:4	2,48	2,81	0,67	2,21	2,76	2,69
Линолейн кислотаси 18:2	13,87	11,76	8,09	17,26	16,68	15,79
Олеин α- линолен кислотаси 18:1, 18:3	39,61	39,75	41,68	40,10	40,54	42,06
Стеарин кислотаси 18:0	5,64	1,23	7,48	3,54	3,67	3,88
Эйкозен кислотаси 20:1	0,71	0,86	0,67	0,39	0,49	0,51
Эйкозан кислотаси 20:0	-	0,34	0,43	0,27	-	0,35
Докозан кислотаси 22:0	-	-	0,38	-	-	-
∑тўйинган ЁК	41,13	45,32	47,92	36,53	35,81	36,13
∑тўйинмаган ЁК	58,87	54,68	52,08	63,47	64,19	63,87

Шундай қилиб, олинган натижаларга кўра, микросувўтларининг ўсиши, биодизел ишлаб чиқариш учун микросувўтларининг биологик потенциалидан максимал даражада фойдаланиш учун уларни самарали ўстириш усулларини излаш керак. Табiiй ёруғлик шароитида микросувўтларини ўстириш сунбiiй ўстиришга қараганда анча тежамкор эканлиги маълум.

Кейинги тадқиқотларимизнинг мақсади лаборатория шароитида юқори миқдорда липид ҳосил қилувчи микросувўтларини кўп миқдорда ўстириш учун мақбул шароитларни аниқлаш учун самарадор *Ch.macrostigmatum* UT4 штамми 20л шиша балонларда ва шаффоф эластик шлангдан (диаметри 2 см, узунлиги 40 м) фотобиореактор тайёрланди.

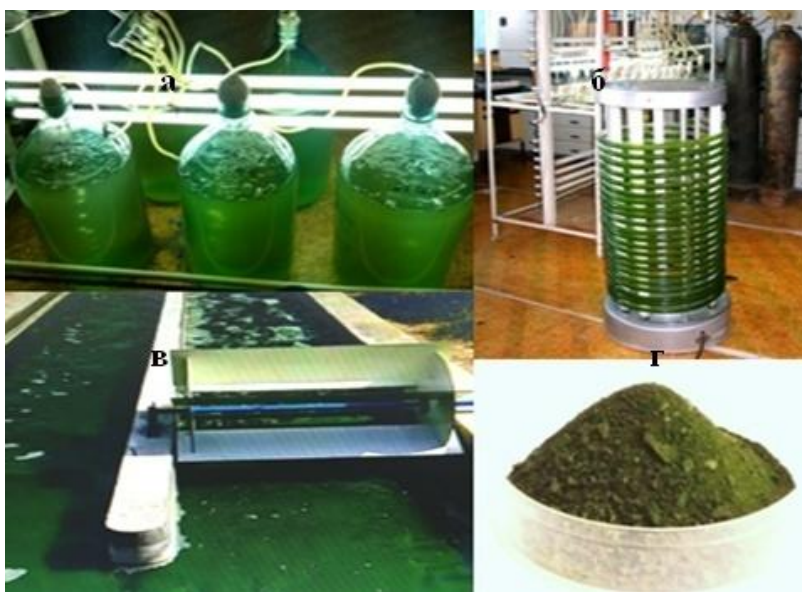
Маҳаллий *Ch.macrostigmatum* UT4 микросувўти штамми 20 л шиша балонларда ўстириш жараёнида тажрибалар қуйдаги стандарт шароитларда ўтказилди:

- 1) инокулянт умумий суспензиянинг 20 % ни ташкил этди;
- 2) pH = 6,8;

3) барча тажрибалар учун суспензия 1% карбонат ангидрид ва ҳаво аралашмасида чайқатилиб, 4000 люкс ёруғлик билан таъминланди;

4) ёритиш 24 соат бўлган.

Ch. macrostigmatum UT4 20 л шиша балонларда 14 кун ўстирилганда қуруқ биомасса 2,285 г/л ни ташкил қилди ва ушбу қуруқ биомассанинг 48,1% ини липидлар ташкил этди. Ушбу культурани лаборатория шароитида 10л фотобиореакторда ўстирилганда деярли шунга ўхшаш натижалар олинди (6б-расм). яъни, қуруқ биомасса 1,234 г/л, липидларнинг ҳосил бўлиши 45,6 % ни ташкил этди.



6-расм. *Ch. macrostigmatum* UT4 микросувўтини 14 кун давомида ўстириш: а) бутил, б) фотобиореактор, в) очик сув хавзаси, г) микросувўтларининг қуруқ биомассаси.

Маҳаллий микросувўтларини биз таклиф қилган айланма трубади фотобиореакторда (6б-расм) ўстириш учун қулай шароитлар танланди: калий нитрат концентрацияси 0,1% бўлган “Чу-13” озуқа муҳитида, 28-30 °С ҳароратда, карбонат ангидрид миқдори 1%, ёруғлик 4000 - 4500 люкс шароитда олиб борилди.

Очиқ латокда *S. armatus* UT39 ўстирилганда (6в-расм) ҳўл биомасса миқдори 3г/л, липидлар миқдори – 32,5% ни ташкил этган бўлса, ушбу штамм фотобиореакторда (20 л бутилларда) ўстирилганда ҳўл биомасса 8,2г/л, липидлар миқдори 33,8% ни ташкил этди.

Шундай қилиб, *S. armatus* UT39 культураси икки хил шароитда ўстирилганда, яъни очик сув ҳавзасида ўстирилганда ёғ миқдори фотобиореакторда ўстирилганга нисбатан 1,3% кам эканлиги аниқланди. Шунга ўхшаш натижалар, *Ch. macrostigmatum* UT4 культурасини ўстиришда ҳам кузатилди яъни, очик сув ҳавзасида ўстирилганда ёғ миқдори 0,5% га камайди. Олинган маълумотларга асосланиб, микросувўтларини очик сув ҳавзасида ўстирилганда биомасса миқдори камайиши аммо, липидлар ҳосил бўлиши 20 л бутилларда ўстирилган шароитдаги билан бир хил бўлади, деган хулосага келиш мумкин.

Кўп миқдорда биомасса ва липидлар олиш учун *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 микросувўти лаборатория шароитида 200 литр ҳажмда фотобиореакторда ўстирилди. Ушбу штамми ўстириш жараёнида сарфланган харажатларни ҳисоблаганимизда: минерал моддалар - 0,106 кг (4367 со'м), сув - 200 л (98 сўм), электрэнергияси - 9,24 кВт (2112,3 сўм) бўлиши аниқланди (3-жадвал). Умумий харажатлар - 6577,3 сўм. Олинган маҳсулот: ҳўл биомасса - 1,599 кг, қуруқ биомасса - 0,457 кг. Умумий ёғ миқдори - 0,272 кгни ташкил этди. Шундай ҳолатда, лаборатория шароитида олинган 1 кг ёғ таннари - 24110,3 сўм бўлиши аниқланди. Ушбу штамми очик латокда ўстириш учун умумий ҳажми 40м³ (узунлиги - 20 м, эни - 4 м, чуқурлиги - 0,5 м), 120 кг ҳўл биомасса (34,2 кг қуруқ биомасса) олинди. Ушбу жараён учун сарфланган харажатлар: минерал моддалар миқдори - 8,810 кг (36335,78 сўм), сув - 40 м³ (9800 сўм), электр энергияси - 60,4 кВт (13808 сўм), иш ҳақи «меҳнатга ҳақ тўлашнинг тарифсиз тизими» га асосан, (тамонларнинг ўзаро келишган ҳолда «ишбай» ҳақ тўлаш) 72 196 сўм. Шундай ҳолатда, умумий харажатлар, 132139,78 сўмни ташкил этди. Натижада микросувўтларидан олинган 1 кг ёғнинг таннари 6477, 440 сўмни ташкил этди.

3-жадвал

Микросувўтлари асосида ёғ олиш тажриба-ишлаб чиқаришнинг иқтисодий регламенти

Кўрсаткич-лар	Ўлчов бирлиги	фотобиореакторда (20 л шиша балонлар) ўстириш	Сарф харажатлар сўм	Микросувўтларни очик латокларда ўстириш	Сарф харажатлар, сўм
Минерал моддалар	кг	0,106	4367	88,1	36335,78
сув сарфи	л	200	98	40 000	9 800
Электрэнергия	кВт	9,24	2112,3	60,4	13 808
Иш ҳақи	сўм	-	-	-	72 196
Жами:	сўм	-	6577,3	-	132139,78
Ҳўл биомасса	кг	1,599	-	120	-
Қуруқ биомасса	кг	0,457	-	34,2	132139,78
Умумий ёғ миқдори	кг	0,272	6577,3	20,4 (назарий)	-
Ёғ	кг	1	24 110,3	1(назарий)	6477,440

Ёғ ҳосил қилувчи юксак ўсимликларнинг ҳосилдорлиги билан таққосланганда, бир вегетация даврида қуйдагича: пахта - 366,2 кг/га, кунгабоқар - 800 кг/га, соя - 374 кг/га, рапс - 1100 кг/га ва бир вегетация даврида (8 ой) микросувўтлари - 8160 кг/га. Халқаро валюта фонди

маълумотларига кўра 1000 литр кунгабоқар ёғининг нархи - 794 \$ (AQSh), соя ёғи- 855 \$ (AQSh), рапс ёғи - 829 \$ (4-жадвал). Микросувўтларидан ёғ олишнинг иқтисодий самарадорлиги юксак ўсимликларнинг ёғлари таннархи билан таққосланганда соя, бундан кунгабоқар ва рапс мойларидан анча арзонлиги аниқланди. Бундан ташқари, микросувўтларнинг ишлаб чиқаришдаги афзаллиги- липид миқдорининг юқорилиги, жадал ўсиш тезлиги, биосинтезнинг бошқарилиш имконияти ва фотобиореакторлар ҳамда очиқ сув ҳавасида ўстириш шароитларининг мавжудлигидир.

4-жадвал

Микросувўтлари асосида ёғ олиш тажриба-ишлаб чиқаришнинг қиёсий регламенти

Микросувўтлари			Пахта	Кунгабоқар	Соя	Рапс
Кўрсаткичлар	Ўлчов бирликлари	Тажриба 15 кун				
Микросувўтлар суспензияси миқдори	литр	40000	-	-	-	-
Қуруқ биомасса	кг	34,2	-	-	-	-
Ёғ	кг	20,4	-	-	-	-
Умумий харажатлар	сўм	132139,78	-	-	-	-
Ёғ бир мавсумда кг/гектар	кг	8160	366,2	800	374	1100
1 тонна ёғ	сўм	781\$ 6 477440	858 \$ 7 114280	794 \$ Февраль	855 \$ Февраль	829 \$ Февраль
1 кг ёғ	сўм	6477,440	7114,28	6578,60	7084	6868,5

Шундай қилиб, олинган натижалар йиғиндисига асосланиб, юқори маҳсулдор маҳаллий микросувўтлари штаммларини ажратиб олдик ва идентификация қилдик. Чунки, идентификация тоза культураларни олиш учун зарур бўлган жараён бўлиб, биодизел ишлаб чиқариш учун микросувўтларининг юқори потенциалли штаммларини танлаш йўлидаги биринчи қадамдир. Юқори миқдорда биомасса ва липид олиш учун ўстириш шароитлари оптималлаштирилди, культураларнинг ёғ кислоталарининг миқдорий ва сифат таркиби аниқланди, микросувўтларида липид синтезининг индукцияси турли услубий ёндашувлар; жумладан азот танқислиги, шўрланиш ва рН ни ўз ичига олган ҳолда ўрганилди.

ХУЛОСА

«Биодизель олиш учун Ўзбекистоннинг юқори маҳсулдор липид ҳосил қилувчи микросувўтлари ва уларда ёғ биосинтези регуляцияси» мавзусидаги диссертацияси бўйича олиб борилган тадқиқотлар натижасида қуйдаги хулосалар тақдим этилди:

1. Ўзбекистоннинг турли минтақаларидан *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlorococcum*, *Botruococcus*, *Chlamydomonas*, *Pediastrum*, *Coelastrum*, *Stichococcus*, *Asterococcus* авлодига мансуб маҳаллий микросувўтлари энг фаол штаммлари танлаб олинди.
2. Юқори самарадор штаммлар *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus armatus* UT39, *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Ankistrodesmus falcatus* UT20 морфологик-культурал хусусиятларига кўра ва 18S рРНК гени асосида тур доирасигача аниқлаш билан изоҳланади.
3. Миҳаллий микросувўтлар штаммларини Chu-13 озуқа муҳитида ўстириш учун оптимал шароитлар аниқланди: ҳарорат 26-28°C, CO₂ – 2 %, ёруғлик - 4500 люкс ва рН 7,0. Ушбу шароитларда микросувўтлар максимал биомасса ва липидлар ҳосил бўлишини намоён қилди.
4. Илк бор самарали микросувўтларида липид синтези индукцияси стресс омиллари: азот танқислиги, шўрланиш ва рН таъсири натижасида аниқланганда, липидларнинг максимал ҳосил бўлиши бир вақтнинг ўзида иккита стресс омиллари, яъни шўрланиш (600 mM NaCl) ва рН 4,0 бўлган шароитда *Ch. macrostigmatum* UT4 қуруқ биомассасининг 72% ни ёғ ташкил қилади.
5. Илк бор самарали маҳаллий микросувўтлари *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus armatus* UT39, *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Ankistrodesmus falcatus* UT20 ёғ кислоталари спектри аниқланди, уларнинг тўйинган ёғ кислоталарининг асосий қисми пальмитин кислотаси (16:0) 25,0 % дан 43% гача ва стеарин (18:0) 5,44 % дан 14,12 % гача, шунингдек, барча наъмуналар таркибида биологик фаол тўйинмаган ёғ кислоталари мавжуд: 18:3 ω 6 – гамма линолен ва 18:4 ω 3 – стеаридон кислотаси ҳамда тўйинган ва тўйинмаган ёғ кислоталарининг умумий миқдори мос равишда 33,18% дан 46,91% ни ва 47,7% дан 66,82% гача қайд этилади.
6. *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 ни ҳажми 40 м³ бўлган очик латокда (ҳавуз) ўстирилганда, умумий харажатлар 132 139,78 сўм, 1 кг ёғнинг таннарихи 6477,440 сўмни ташкил қилди.

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

ИНСТИТУТ МИКРОБИОЛОГИИ

САФАРОВ ИБРОҲИМ ВАЛИЕВИЧ

**ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫЕ ЛИПИД-ПРОДУЦИРУЮЩИЕ
МИКРОВОДОРОСЛИ УЗБЕКИСТАНА И РЕГУЛЯЦИЯ БИОСИНТЕЗА
МАСЕЛ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОДИЗЕЛЯ**

03.00.12 – Биотехнология

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент-2019

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2017.1.PhD/В41

Диссертация выполнена в Институте микробиологии.

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

Научный руководитель: **Шакиров Заир Саатович**
доктор биологических наук

Официальные оппоненты: **Мирзарахметова Дилбар Тохтамуратовна**
доктор технических наук

Ибодов Комил
кандидат биологических наук, доцент

Ведущая организация: **Институт Ботаники**

Защита диссертации состоится «_____» января 2020 года в 10:00 часов на заседании Научного совета DSc.27.06.2017.В.38.01 при Институте микробиологии и Национальном университете Узбекистана (Адрес: 100128, г. Ташкент, Шайхонтохурский 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: microbio@academy.uz.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института микробиологии (зарегистровано под № _____). Адрес: 100128, г. Ташкент, Шайхонтохурский район, ул. А. Кадырий 7б, Административное здание Института микробиологии, 5-й этаж, библиотека Института микробиологии. Тел.: (+99871) 241-71-98.

Автореферат диссертации разослан: «_____» 2019 г.
(реестр протокола рассылки № от «_____» 2019).

Арипов Тахир Фатихович
Председатель Научного совета по присуждению
ученых степеней, д.б.н., профессор, академик

Жураева Рохилия Назаровна
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней, к.б.н. старший научный сотрудник

Гулямова Тошхан Гофуровна
Председатель научного семинара при научном совете по
присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Мировая энергетика в большой степени зависит от ископаемых энергоресурсов – нефти, угля и газа. Потребность в данных энергоносителях с каждым годом все возрастает, а их запасы уменьшаются. В связи с этим, возрос интерес к альтернативным возобновляемым источникам энергии, способным обеспечить стабильное производство энергии в течение долгого периода времени. Микроводоросли могут быть источником для получения возобновляемого топлива, включая биодизельное топливо и биоэтанол. Микроводоросли могут производить в 30 и более раз больше масла на единицу площади земли, чем другие масличные культуры (подсолнечник, соя, рапс, кукуруза, кокос, хлопчатник и др). Кроме того, они могут расти практически везде (в воде, в лесу, в горах, на снегу, в теплом и холодном климате) – для их поддержания требуется вода (включая сточные воды), солнечный свет, CO₂ и минеральные соли. Соответственно, выделение, и отбор наиболее высокопродуктивных по накоплению биомассы и липидов микроводорослей, а также создание на их основе биотехнологии получения биодизеля, является наиболее актуальной проблемой.

В мире исследования физиологии биосинтеза нейтральных липидов у микроводорослей позволяет управлять метаболизмом этих организмов при лабораторном и промышленном культивировании. Это имеет решающее значение для раскрытия биосинтетического потенциала перспективных штаммов-продуцентов, применяемых в разработке фотобиотехнологий для получения из микроводорослей липидов, витаминов, антиоксидантов и биологически активных веществ и др., определение регуляции биосинтеза масел в клетках, а также выделение и отбор высокопродуктивных липид-продуцирующих местных штаммов микроводорослей требует создания биотехнологии получения биодизеля.

Республика располагает богатыми природными ресурсами и климатическими условиями для выращивания микроводорослей, в том числе, особое внимание уделяется производству, разработке и внедрению в практику возобновляемого топлива, биодизеля и биоэтанола, а также получены определенные результаты по выделению и отбору высоко липид продуцирующих местных штаммов микроводорослей. В стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан намечены задачи «...расширения использования возобновляемых источников энергии, сокращения энергоемкости производства, целевого внедрения в практику отечественных научно-технических разработок и исследований передовых апробированных международных энергосберегающих технологий, реализации приоритетных направлений в этой сфере¹». Исходя из поставленных задач,

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года УП-4947 «Стратегия действий по пяти приоритетам дальнейшего развития Республики Узбекистан»

включая поиск и скрининг липид образующих микроводорослей, являющихся альтернативным источником возобновляемой энергии, определение регуляции биосинтеза масел в их клетках имеет практическое и экологическое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Указом Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан», и Распоряжением Президента Республики Узбекистан №3012 от 26 мая 2017 года «О программе мер по повышению энергоэффективности, развитию возобновляемых источников энергии, экономики и социальной сферы в 2017 - 2021 годы», Указом Президента Республики Узбекистан ЗРУ 539 от 21 мая 2019 года Республики Узбекистан «Об использовании возобновляемых источников энергии», а также другими нормативно-правовыми документами, принятыми в данной сфере.

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

Степень изученности проблемы. В развитых странах, таких как Япония, Израиль, Болгария, Мексика, США, Германия, Россия широко изучаются технологии получения биодизеля из масел микроводорослей. Кроме этого, в ведущих научных центрах и университетах мира проводятся исследования по отбору липид продуцирующих микроводорослей для получения биодизеля. В частности, А. Ben-Amotz (2004), Y. Chisti (2008), Н.С. Greenwell et al., (2010), J.K. Pittman et al., (2011), D. Sasi et al., (2011), Ronald H. (2012), Соловченко А. Е. (2012), M.J. Barbosa and R.H. Wiffels (2013), Kumar R.R. (2015), С.А. Нагорнов и Ю.В. Мещерякова (2015), E.M. Fakhry and D.M.E.Maghraby (2015), M. Sakarika and M.Kornaros (2016), N. Mallick et al., (2016).

В республике работы А.М. Музафарова (1970), Х.А. Бердыкулова (1980), М.А.Кучкаровой (1990) были изучению альгофлоры рек, оценки санитарного состояния водоемов с видами индикаторами сапробности. Работы М.Мурадова (1990), Г.Х.Кадыровой (2000) посвящены выделению и скринингу активных азотфиксирующих сине-зеленых водорослей и созданию на их основе биопрепаратов для сельскохозяйственной практики. Следует отметить, что практически отсутствуют данные о синтезе липидов, составе жирных кислот, усилении синтеза липидов под воздействием стрессовых факторов и получение биодизеля из липидов местных высокопродуктивных микроводорослей Узбекистана.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного или научно-исследовательского учреждения, где выполнена диссертация: Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института микробиологии в рамках фундаментального проекта ФА-Ф6-Т328 «Поиск высокопродуктивных липид-продуцирующих микроводорослей и цианобактерий Узбекистана и регуляция биосинтеза масел для получения биодизеля» (2012-2016 гг.).

Целью исследования являлось определение потенциала липидного синтеза у местных штаммов микроводорослей, выделенных из водных образцов различных регионов Узбекистана и получение биодизеля из масел микроводорослей в лабораторных условиях.

Задачи исследования:

поиск, выделение и скрининг продуктивных местных микроводорослей из различных водных экосистем;

идентификация на основе морфолого-культуральных свойств и анализа 18S рРНК гена эффективных липид продуцирующих местных штаммов микроводорослей;

оптимизация условий культивирования микроводорослей для наибольшего выхода биомассы и липидов;

исследование индукции синтеза липидов в клетках микроводорослей под влиянием стрессовых факторов: азотное голодание, засоление, показатели рН среды;

определение количественного и качественного состава жирных кислот высокопродуктивных микроводорослей;

определение экономической эффективности получение масел из микроводорослей.

Объектом исследования служили местные штаммы микроводорослей рода *Scenedesmus*, *Chlorococcum*, *Coelastrum*, *Chlamydomonas*, *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Asterococcus* и *Pediastrum* выделенных из различных водных бассейнов Узбекистана.

Предметом исследования являлось высокопродуктивные липидобразующие микроводоросли Узбекистана и их роль в производстве биодизеля.

Методы исследования. В работе были использованы микробиологические, альгологические, биотехнологические, биохимические, молекулярно-генетические, химические и статистические методы исследования

Научная новизна исследования заключается в следующем:

по образованию биомассы и липидов из проб различных водных бассейнов Узбекистана на основе выделены 164 активных местных штамма микроводорослей родов *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*,

Chlorococcum, *Botryococcus*, *Chlamydomonas*, *Pediastrum*, *Coelastrum*, *Stichococcus*, *Asterococca*;

на основе 18S рРНК гена проведена идентификация наиболее активных местных штаммов микроводорослей *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Scenedesmus armatus* UT39 и *Ankistrodesmus falcatus* UT20 и создано их филогенетическое древо, основанное на анализе ДНК;

сравнение ТСХ анализов R_f триглицеридов и жирных кислот штаммов показало близкие значения с R_f хлопкового масла. Было выявлено, что в составе общих липидов преобладает содержание диглицеридов и триглицеридов;

впервые выявлено, что при исследовании спектра жирных кислот местных микроводорослей обнаружено от 7 до 14 компонентов. Основными среди насыщенных кислот является гексадекановая или пальмитиновая кислота (16:0) от 25.0% до 39.43%, а также значительное содержание стеариновой или октадекановой кислот (18:0) от 5.44% до 14.12%. Среди ненасыщенных кислот преобладает сумма октадеценновой (18:1) и альфа-октадекатриеновой кислот от 36.64% до 53.75%;

впервые, содержание масла в оптимальных условиях в клетках *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 составляет 59,7%. При переэтрификации липидов получено с выходом биодизеля - 67,3%.

Практические результаты исследования заключаются в следующем: создана коллекция активных липидобразующих местных штаммов микроводорослей *Ch. macrostigmatum* UT4, *Ch. macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus* sp.29 и *Scenedesmus* sp.37, *Chlorella* sp.2, *Scenedesmus acutus* UT1, *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Coelastrum microporum* UT1, *Pediastrum tetras* UT2, *Ankistrodesmus angustus* UT15;

обосновано, что местные штаммы микроводорослей являются потенциальными продуцентами липидов для производства биодизельного топлива в нашей Республике;

Достоверность результатов исследований подтверждается тем, что экспериментальные данные получены с применением современных микробиологических, альгологических, биохимических, молекулярно-генетических методов. Статистическую обработку результатов проводили при помощи критерия Стьюдента и дисперсионного анализа Фишера (ANOVA), а также опубликованностью результатов диссертации.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования определяется тем, что выделены и идентифицированы местные штаммы липид продуцирующих микроводорослей из проб различных водных бассейнов Узбекистана. С установлено, что в составе жирных кислот микроводорослей обнаружено от 7 до 14 компонентов, среди которых 45% составляют насыщенные жирные кислоты и 55% ненасыщенные жирные кислоты.

Практическая значимость исследования заключается в том, что местные штаммы микроводорослей являются перспективными и потенциальными продуцентами липидов для производства биодизельного топлива в нашей Республике.

Внедрение результатов исследования: на основе научных результатов по получению высокой биомассы и липидов из микроводорослей:

образцы альгологически чистых микроводорослей, собранных из различных водоемов Узбекистана, используется в проекте А-7-064 «Создание биопрепарата на основе активных азотфиксирующих и фитогормон-продуцирующих цианобактерий для повышения урожайности сельскохозяйственных растений на засоленных и загрязненных пестицидами почвах» для определения водных и почвенных гидробионтов (Справка Академии Наук Республики Узбекистан № 4/1255-1140 от 02.05.2018 года). В результате составлен список гидробионтов водоемов, проанализированы их экологические свойства;

высоко биомасса и липид-продуцирующие штаммы *Chlorococum macrostigmatum* UT4 были выращены для получения сырой биомассы в промышленном масштабе культивирования в открытых и закрытых системах (Справка №-494 Ассоциации “Предприятия альтернативного топлива и энергии” Республики Узбекистан от 10 мая 2018 года). В результате получено 558 кг сухой биомассы и 259,4 кг липидов к данной сухой биомассе.

с помощью переэтерификации извлечено 5 литров триглицеридов и вводилось в работу водозаборного насоса марки Kingchai KC168F путем смешивания 20% с дизельным топливом (Справка №-494 Ассоциации “Предприятия альтернативного топлива и энергии” Республики Узбекистан от 10 мая 2018 года). В результате при использовании 20% к дизельному топливу экономическая эффективность увеличилась на 2% по сравнению с существующим дизельным топливом.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 7 различных научно-практических конференциях, в том числе в 4-х международных и 3 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 8 научных статей, в том числе 7 в республиканских и 1 в зарубежном журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 118 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуется объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагается научная новизна и практические результаты исследования, раскрывается научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «Источники возобновляемой альтернативной энергии, распространение и таксономия микроводорослей, биосинтез и индукция липидов» представлены показатели роста производства биотоплива, технология получения энергии путём переработки биомассы. Показано, что микроводоросли могут быть источником для получения возобновляемого топлива, включая биодизельное топливо и биоэтанол.

Во второй главе диссертации «Изучение свойств одноклеточных зеленых водорослей и методы экспериментального испытания» описаны методы исследований, приведены использованные в работе микроводоросли, приборы, оборудование, альгологические, биотехнологические и физико-химические методы анализа.

В третьей главе диссертации «Одноклеточные зелёные микроводоросли Узбекистана» представлены сведения об изучении динамики роста 164 изолятов микроводорослей, выделенных из водных источников различных регионов Узбекистана.

Показано, что по своим морфолого-культуральным характеристикам изоляты АК1, АК2, АТ3, АС4 относятся к семейству *Chlorellaceae*, подсемейству *Chlorelloideae*, роду *Chlorella*. Клетки культур рода *Chlorella* одиночные, очень редко в скоплениях, шаровидные. Выявлено, что *Chlorella* АС4 является представителем *Chlorellavulgaris*4. Размер клетки *C. vulgaris*4 составляет 2,5 -10 мкм (рис1а).

Таксономическое исследование клеток изолятов ГТ4, ГС8, ГС10, ГС11, ГК19, ГК20 показало, что данные культуры относятся к семейству *Chlorococcaceae*, роду *Chlorococcum*. Клетки микроводорослей одиночные, иногда во временных рыхлых скоплениях неопределенной формы, эллипсоидные или шаровидные. По морфолого-культуральным свойствам *Chlorococcum* ГТ4 относится к виду *Chlorococcum macrostigmatum* УТ4(рис.1б).

По морфологии клеток микроводорослей БТ4, БН7, БК18, БК25, БТ29, БТ39, БС40 относятся к семейству *Scenedesmaceae*, подсемейству *Scenedesmoideae*, роду *Scenedesmus*. Культуры рода *Scenedesmus* плоские, прямые или слегка изогнутые, одно- или двурядные, из 2, 4, 8, 16 клеток, соединенных продольными сторонами параллельно друг другу или

поочередно. По общим морфологическим параметрам БТ 39 относится к виду *Scenedesmus armatus* UT39 (рис.1д). Размер клеток 6 - 14 x 2 - 4 мкм.

Изоляты микроводорослей ВК2, ВТ7, ВС15, ВТ20 являются представителями семейства *Ankistrodesmaceae*, подсемейства *Ankistrodesmoideae*, рода *Ankistrodesmus*. Клетки вытянутые, прямые или слегка изогнутые до винтовидно скрученных, игловидные до цилиндрических, постепенно зауженных и заостренных к концам. ВТ20 является представителем *Ankistrodesmus falcatus* UT20 (рис.1ё). Колонии культуры состоят из 2-4 клеток, пучковидные. Клетки размером 22 - 62 x 1,2 - 4,3 мкм.

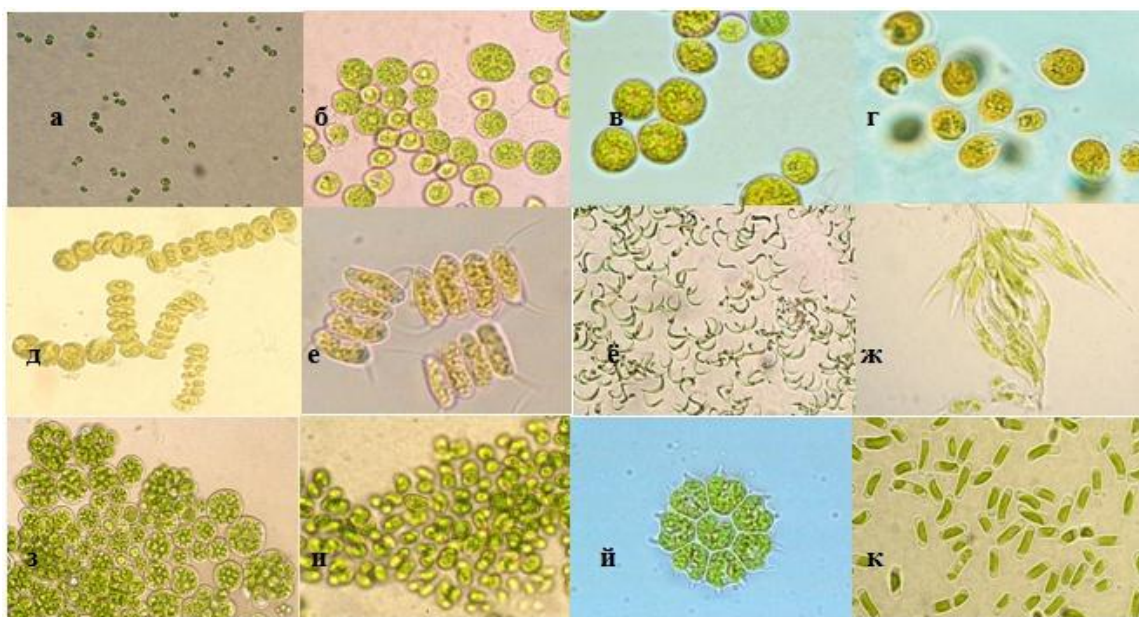


Рис 1. Световая микроскопия местных активных штаммов микроводорослей (а) *Chlorella* sp.4, (б) *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, (в) *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, (г) *Chlamydomonas reinhardtii* UT5, (д) *Scenedesmus armatus* UT39, (е) *Scenedesmus quadricauda* UT4, (ё) *Ankistrodesmus falcatus* UT20, (ж) *Ankistrodesmus angustus* UT15, (з) *Coelastrum microporum* UT4, (и) *Botryococcus* sp.14, (й) *Pediastrum tetias* UT1, (к) *Stichococcus bacillaris* UT1

Далее, для подтверждения таксономического статуса местных эффективных штаммов микроводорослей *S. quadricauda* UT4, *S. armatus* UT39, *A. falcatus* UT20 нами была проведена идентификация на основе 18S рРНК гена. На основе полученных результатов создано филогенетическое дерево исследованных микроводорослей (рис.2).

Таким образом, впервые из различных водных источников Узбекистана выделены и идентифицированы местные высокопродуктивные штаммы микроводорослей рода *Scenedesmus*, *Chlorococcum*, *Coelastrum*, *Chlamydomonas*, *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Botryococcus*, *Asterococcus* и *Pediastrum*.

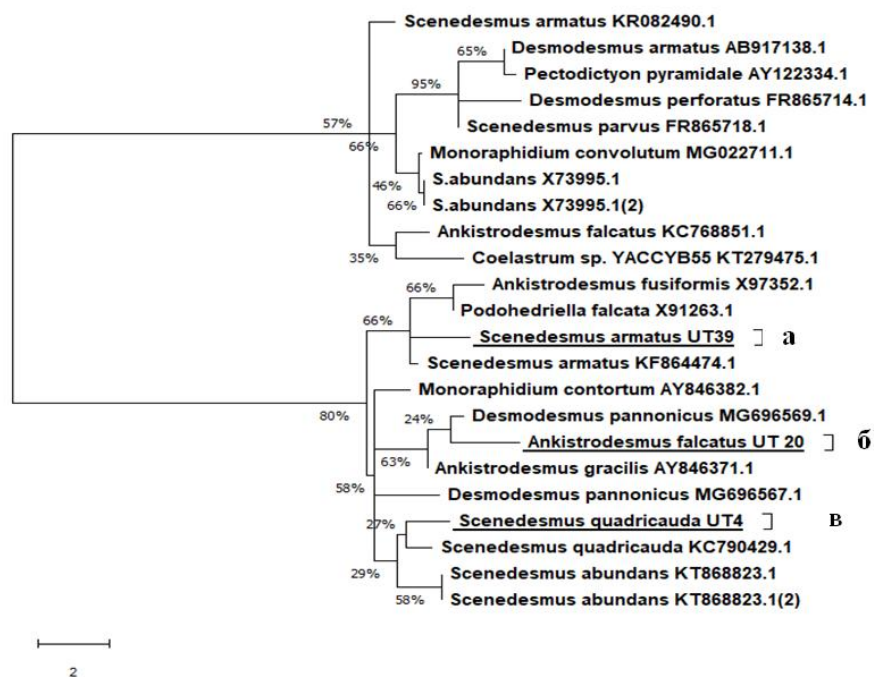


Рис 2. Генеалогическое дерево одноклеточных микроводорослей на основе результатов исследования генов 18SpPHK: а-*Scenedesmus armatus* UT39, б-*Ankistrodesmus falcatus* UT20, в-*Scenedesmus quadricauda* UT4.

В четвёртой главе «Оптимизация условий роста и развития местных микроводорослей» представлены данные о влиянии температуры, показателей pH, CO₂ и интенсивности света, а также различных концентраций азотсодержащих солей на рост и развитие микроводорослей.

Для изучения влияния температуры на рост-развитие и продуктивность биомассы и накопление липидов, местные культуры микроводорослей выращивали на жидкой среде «Чу-13». Выявлено, что наибольшее накопление биомассы (165-178 мг/100 мл) и липидов (41,8- 57,6%) наблюдается *Ch. macrostigmatum* UT4, *Ch. macrostigmatum* UT8, при 28°C. Оптимум температуры роста для штаммов *S. quadricauda* UT4, является 26°C, при этом образование биомассы составляет от 128 до 222 мг/100 мл.

Далее, при изучении влияния показателей pH среды, концентраций углекислого газа (CO₂) и интенсивности света (1500 лк, 3500 лк, 4500 лк), установлено, что исследованные микроводоросли дают обильную биомассу и липидов при pH-7,0, 2% CO₂ и 4500 лк освещенности. Для определения оптимальной концентрации азота (KNO₃) микроводоросли культивировали в течение 14 сут на среде, содержащей 0,1%, 0,3%, 0,5% KNO₃. Показано, что для интенсивного роста и накопления липидов клетками микроводорослей оптимальной концентрацией азота является 0,1%.

Следует отметить, что наиболее высокая продуктивность по синтезу масел наблюдали в культурах *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 при выращивании их в оптимальных условиях в течение 30 сут. При световой

микроскопии видны оранжево-желтые клетки культур, заполненные маслом, при раздавливании которых вытекает масло в виде эмульсии (рис.3).



Рис 3. Световая микроскопия клеток *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 (а), пустые протопласты клеток после разрушения (б) капельки масел культур *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 (в).

В пятой главе диссертации «Регуляция синтеза масел в клетках микроводорослей под влиянием стрессовых факторов» исследованы процессы увеличения количества масел при инкубировании микроводорослей в стрессовых условиях (азотное голодание, засоление, показатели рН среды).

На первом этапе исследований микроводоросли *Ch. macrostigmatum* UT4, *S. quadricauda* UT4, *S. armatus* UT39 и *A. falcatus* UT20 предварительно выращивали в оптимальных условиях на среде «Чу-13» в течение 7 сут. Далее выращенные культуры переводили на безазотную среду и инкубировали в течение 72 час. Как показали результаты опытов, максимальное увеличение накопления липидов в клетках *Ch. macrostigmatum* UT4 обнаруживается на 60 час инкубации и составляет 51% от общей сухой биомассы (рис.4а). Следует отметить, что количество липидов у *Ch. macrostigmatum* UT4 увеличивается практически в два раза к контролю.

Следующим этапом исследований являлось изучение влияния засоления на индукцию синтеза липидов у микроводорослей. Исследуемые культуры инкубировали на среде, содержащей 400 и 600 мМ хлорида натрия в течение 20 час. Максимальный синтез наблюдается на 16 час инкубации культур при засолении и составляет при 400 мМ NaCl от 38% до 54%, а при 600 мМ NaCl от 42% до 64% от общей сухой биомассы (рис.4б,в).

Далее, при инкубации исследуемых культур при рН 4,0 и рН 9,0, нами было установлено, что индукция синтеза липидов усиливается при инкубации культур при рН 4,0 в течение 18 час (рис.4г). При инкубации культур в стрессовых показателях рН 9,0 не наблюдается усиления синтеза липидов (рис.4д).

Для большего усиления накопления липидов в клетках микроводорослей, нами было исследовано влияние двух стрессовых факторов одновременно, таких как засоление (400 мМ NaCl) и рН среды 4,0.

Культуры инкубировали в течение 20 час, при этом индукция синтеза липидов наблюдается при 12 час инкубации для всех исследуемых культур. Следует отметить, что у *Ch.macrostigmatum* UT4 максимальное накопление липидов значительно больше, чем при других исследованных стрессах, таких как азотное голодание, засоление, показатели рН среды и составляет 72% от общей сухой биомассы (рис.4е). Т.е. накопление липидов увеличивается более 3-х раз, чем в исходной культуре (23% от общей сухой биомассы).

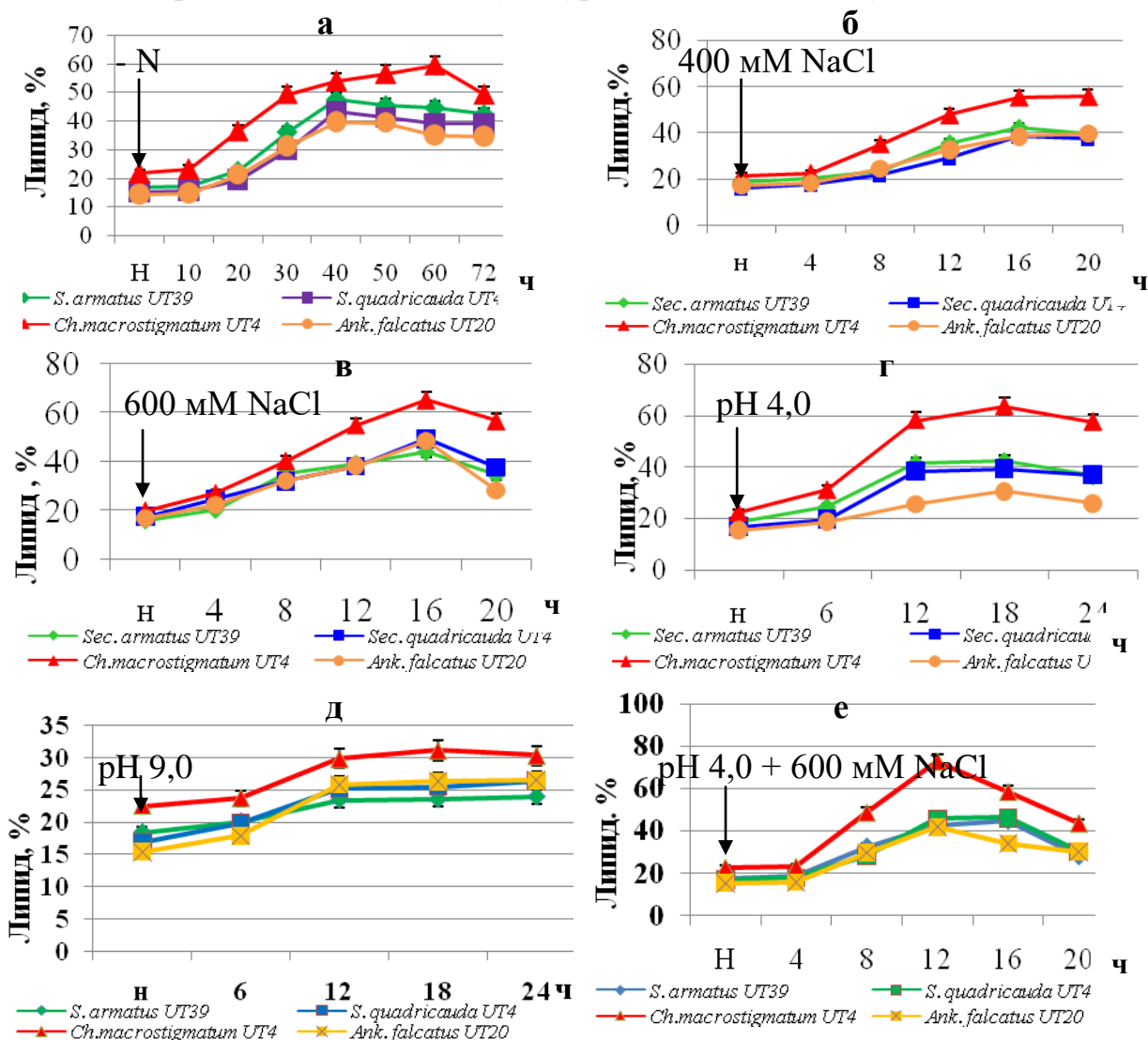


Рис.4. Количество масел при инкубировании в стрессовых условиях: а) в безазотной питательной среде, б) при 400 мМ NaCl в определённом промежутке времени, в) при 600 мМ NaCl в определённом промежутке времени, г) Образование липидов у микроводорослей в стрессовых условиях при рН-4,0 в определённом промежутке времени, д) Образование липидов у микроводорослей в стрессовых условиях при рН-9,0 в определённом промежутке времени, е) Образование липидов у местных штаммов микроводорослей при одновременном воздействии двух стрессовых условий (рН-4,0 + 600 мМ NaCl).

Следует подчеркнуть, что условия, благоприятствующие накоплению ТАГ, являются стрессовыми: они препятствуют делению клеток и замедляют рост культуры, снижая продуктивность, что входит в противоречие с задачей получения максимального накопления биомассы с максимальным содержанием целевого продукта (в данном случае ТАГ). Одним из возможных путей решения этой задачи явилось разобшение двух процессов: 1 стадия - накопление биомассы на полной питательной среде, обеспечивающей высокую продуктивность по биомассе и 2 стадия - перевод полученной биомассы, для индукции синтеза нейтральных липидов (ТАГ) в стрессовые условия, создаваемые дефицитом элементов минерального питания и условиями культивирования.

Таким образом, при стрессе, например при дефиците азота, под влиянием засоления, кислой и щелочной среды, наступает так называемая липогенная фаза, которая характеризуется замедлением или остановкой клеточного деления, нередко редукцией фотосинтетического аппарата и накоплением ТАГ, которые откладываются в виде цитоплазматических включений сферической формы в олеосомах или липидных глобулах.

В шестой главе диссертации “Получение биодизеля из липидов местных микроводорослей” приводятся данные о количественном и качественном составе жирных кислот микроводорослей, выращивании культур в различных фотобиореакторах и получение биодизеля из липидов микроводорослей в лабораторных условиях.

Тонкослойная хроматография состава липидов культур показало, что моноглицериды исследуемых штаммов *Ch. macrostigmatum* UT4, *Ch. macrostigmatum* UT8, *Chlorococcum* sp.39, *S. acutus* UT1, *S. quadricauda* UT4, *C.reinhardtii* UT11, *A. falcatus* UT20, *C.microporum* UT1 имеют практически схожую R_f с хлопковым маслом и составляет 15 мм, в то время как R_f диглицеридов жирных кислот составляет 25 мм и триглицеридов - 45мм (рис. 5). Таким образом, сравнительный тонкослойный хроматографический анализ R_f липидов культур показало схожее значение с R_f хлопковым маслом.

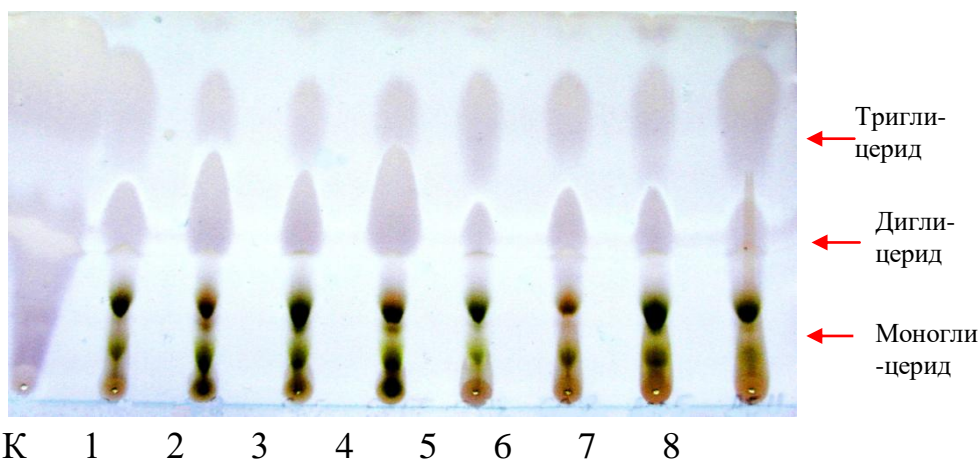


Рис. 5. Тонкослойная хроматография липидов местных микроводорослей: К- Хлопковое масло, 1- *Chlorococcum macrostigmatum*

UT4, 2- *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, 3-*Chlorococcum* sp.39, 4-*Scenedesmus acutus* UT1,5-*Scenedesmus quadricauda* UT4, 6- *Chlamydomonas reinhardtii* UT11, 7- *Ankistrodesmus falcatus* UT20, 8-*Coelastrum microporum* UT1

Далее при исследовании состава жирных кислот местных микроводорослей *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, *Scenedesmu acutus* UT1, *Scenedesmus quadricauda* UT4 обнаружено 15 компонентов, среди насыщенных кислот, основными из которых является пальмитиновая кислота (16:0) от 25.0 % до 39.43 %, а также содержание стеариновой (18:0) значительное от 5.44 % до 14.12 % . Среди ненасыщенных кислот преобладает сумма октадеценовой (18:1) + альфа-октадекатриеновой кислот от 36.64% до 53.75%. Доля линолевой кислоты (18:2) наименьшая в культурах *Chlorococcum macrostigmatum* UT8 (табл.1).

Таблица 1

Качественный и количественный состав жирных кислот микроводорослей выращенных в течение 14 сут

Жирные кислоты	Микроводоросли	<i>Ch. macrostigmatum</i> UT4, %	<i>Ch. macrostigmatum</i> UT8, %	<i>Scenedesmus armatus</i> UT39, %	<i>Scenedesmus quadricauda</i> UT4,%
Додекановая кислота 12:0		1,05	0,73	0,26	-
Тетрадекановая кислота 14:0		2,21	1,75	0,75	1,48
Пентадекановая кислота 15:0		0,60	0,58	0,23	-
Гексадекановая кислота 16:0		29,81	33,05	25,0	39,43
Гептадекановая кислота 17:0		0,56	0,77	0,31	-
Октадекановая кислота 18:0		9,75	14,12	6,28	5,44
Эйкозановая кислота 20:0		0,63	0,93	0,35	0,56
Докозановая кислота 22:0		0,23	0,37	Сл.	-
Гексадеценовая кислота 16:1		0,59	0,27	Сл.	-
Октадеценовая кислота 18:1 +альфа-октадека-триеновая кислота 18:3		41,87	36,64	53,75	38,86
Октадекадиеновая кислота 18:2		11,23	9,24	10,82	11,57
гамма – октадекатриеновая кислота γ-18:3		0,32	0,24	0,56	0,63
Стеаридоновая кислота 18:4		0,59	0,43	0,81	1,28
Эйкозеновая кислота 20:1		0,56	0,88	0,88	0,75
∑ насыщенных ЖК		44,84	52,3	33,18	46,91
∑ ненасыщенных ЖК		55,16	47,7	66,82	53,09

Определение состава жирных кислот *Scenedesmus quadricauda* UT4 и *Scenedesmus armatus* UT39 в зависимости от времени культивирования проводили в течение 14, 21 и 30 сут. Выявлено, что время культивирования незначительно влияет на качественный состав жирных кислот исследуемых *Scenedesmus armatus* UT39 в зависимости от времени культивирования проводили в течение 14, 21 и 30 сут. Выявлено, что время культивирования незначительно влияет на качественный состав жирных кислот исследуемых культур, в то время как наблюдается количественное изменение в составе липидов *Scenedesmus quadricauda* UT4 и *Scenedesmus armatus* UT39. Как видно из таблицы 2 суммарное количество насыщенных жирных кислот у *Scenedesmus quadricauda* UT4 в течение 14 сут культивирования составляет 41,13%, а при 30 сут – 47,92%, то есть суммарное количество насыщенных жирных кислот увеличивается в зависимости от времени культивирования на 6.8%, в то время как суммарное количество ненасыщенных жирных кислот уменьшается на 6.8%.

Таблица 2

Качественный и количественный состав жирных кислот микроводорослей в зависимости от времени культивирования

Микроводоросли	<i>Scenedesmus quadricauda</i> , UT4, %			<i>Scenedesmus armatus</i> UT39, %		
	14 сут	21 сут	30 сут	14 сут	21 сут	30 сут
Жирные кислоты						
Додекановая кислота 12:0	0,59	0,32	0,38	0,33	0,26	0,24
Тетрадекановая кислота 14:0	1,67	2,05	2,49	0,91	0,84	0,95
Пентадекановая кислота 15:0	0,50	0,57	0,54	0,33	0,30	0,28
Гексадеценная кислота 16:1	0,46	0,22	0,53	0,40	0,35	0,35
Пальмитиновая кислота 16:0	32,40	33,46	35,79	30,82	30,42	30,08
Гептадекановая кислота 17:0	0,33	0,35	0,43	0,33	0,32	0,35
γ-октадекатриеновая кислота 18:3	1,74	1,28	0,44	3,11	3,37	2,47
Стеариновая кислота 18:4	2,48	2,81	0,67	2,21	2,76	2,69
Линолеиновая кислота 18:2	13,87	11,76	8,09	17,26	16,68	15,79
Олеиновая α-линоленовая кислота 18:1, 18:3	39,61	39,75	41,68	40,10	40,54	42,06
Стеариновая кислота 18:0	5,64	1,23	7,48	3,54	3,67	3,88
Эйкозеновая кислота 20:1	0,71	0,86	0,67	0,39	0,49	0,51
Эйкозановая кислота 20:0	-	0,34	0,43	0,27	-	0,35
Докозановая кислота 22:0	-	-	0,38	-	-	-
∑ насыщенные ЖК	41,13	45,32	47,92	36,53	35,81	36,13
∑ не насыщенные ЖК	58,87	54,68	52,08	63,47	64,19	63,87

Таким образом, исходя из полученных результатов, можно заключить, что по росту, развитию, накоплению липидов и по составу жирных кислот,

местные штаммы микроводорослей *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Scenedesmus quadricauda* UT4 и *Scenedesmus armatus* UT39 являются перспективными продуцентами липидов для производства биодизельного топлива.

Для того, чтобы максимально использовать биологический потенциал микроводорослей для получения биотоплива, необходимо искать способы их эффективного культивирования. Известно, что для выращивания водорослей в естественных условиях освещение гораздо более экономично, чем при искусственном культивировании.

Цель дальнейших исследований заключалась в определении оптимальных условий массового культивирования микроводорослей с повышенным содержанием липидов в фотобиореакторах в лабораторных условиях.

В соответствии с рисунком 6а для выращивания наиболее эффективного штамма *Ch.macrostigmatum* UT4, нами были отобраны 20 л стеклянные баллоны и создан фотобиореактор из прозрачного эластичного шланга (диаметр 2,0 см, длина 40 м). Эксперименты по выращиванию микроводорослей в 20 л баллонах проводились при следующих фиксированных условиях:

1) посевной материал составлял 20% от общего объема суспензии; 2) рН = 6,8; 3) барботаж суспензии для всех экспериментов осуществлялся газовой смесью с содержанием углекислого газа 1% и при 4000 люкс; 4) фотопериод составлял 24 часа.

Динамика прироста сухой биомассы и накопления липидов у *Ch.macrostigmatum* UT4 в 20 л стеклянных баллонах показало, что в течение 14 сут культивирования образование сухой биомассы составляет 2,285 г/л, а накопление липидов достигает 48,1% к данной сухой биомассе. В лабораторных условиях при выращивании данной культуры в 10 л фотобиореакторе получены практически аналогичные результаты (рис.6б). Так, количество биомассы составляет 1,234 г/л, при этом накопление липидов - 45,6%. Следует отметить, что при переэтрификации липидов *Ch.macrostigmatum* UT4 получено 67,3% биодизеля.

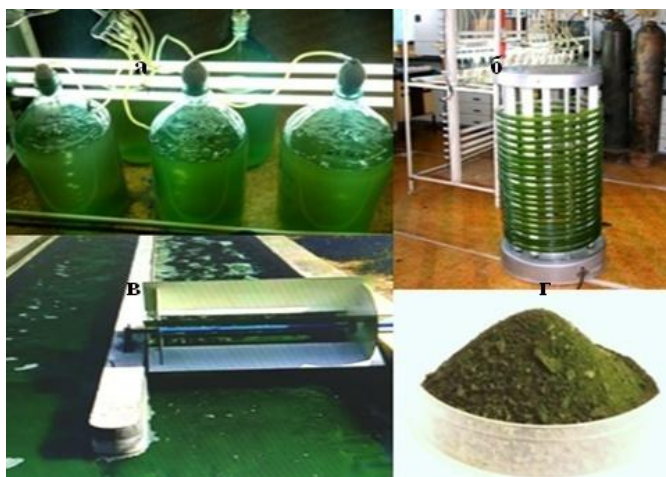


Рис.6. Выращивание *Ch.macrostigmatum* UT4 в течение 14 сут:
а) бутылка,
б) фотобиореактор,
в) в лотках,
г) сухая биомасса микроводорослей.

Таким образом, для предложенного нами циркулирующего трубчатого фотобиореактора (рис.6б), подобраны оптимальные условия культивирования местных штаммов микроводорослей: питательная среда «Чу-13» с 0,1 % концентрацией нитрата калия, при температуре 28-30°C, с подачей 1 % концентрацией углекислого газ, 4000 – 4500 люкс.

При культивировании штамма *S.armatus* UT39 в открытых лотках (рис.6в.) количество сырой биомассы составляет 3 г/л, липиды – 32,5%, а при культивирования данного штамма на фотобиореакторе (20 л бутылка) образование сырой биомассы составляло 8,2 г/л, масел–33,8%. Соответственно, при культивировании *S.armatus* UT39 на двух разных установках, выявлено, что при выращивании в открытых лотках образование масел на 1,3% меньше, чем при культивировании в лабораторных условиях. Аналогичные результаты получены по отношению к культуре *Ch.macrostigmatum* UT4, то есть при культивировании в открытых лотках образование масел снижается на 0,5%. Исходя из полученных данных, можно заключить, что при культивировании микроводорослей в лотках образование биомассы значительно меньше, но накопление липидов остается на уровне культур выращенных в лабораторных условиях в 20 л бутылках.

Для получения большого количества биомассы и липидов микроводоросли *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 культивировали на фотобиореакторе в лабораторных условиях в объёме 200 литров. Далее, нами были рассчитаны затраты для культивирования данного штамма в фотобиореакторе: минеральные вещества – 0,106 кг (4367 сум), вода - 200 л (98 сум), электроэнергия - 9,24 кВт (2112,3 сум) (табл.3). Общие затраты составляют - 6577,3 сум. Полученный продукт: сырая биомасса - 1,599 кг, сухая биомасса - 0,457 кг. Общее количество масел составляет - 0,272 кг. Так, себестоимость 1 кг масла, полученного из микроводорослей выращенных в лабораторных условиях составляет - 24110,3 сум.

При культивировании данного штамма в открытом лотке (бассейне), с общим объёмом 40 м³ (длина - 20 м, ширина - 4 м, глубина - 0,5 м) получено 120 кг сырой биомассы (34,2 кг сухой биомассы). Затраты для данного процесса составляет: количество минеральных веществ - 8,810 кг (36335,78 сум), воды - 40 м³ (9800 сум), электроэнергии - 60,4 кВт (13808 сум), заработная плата на договорной основе - 72196 сум. Таким образом, сумма общих затрат составляет 132139,78 сум. В результате себестоимость 1 кг масла, полученного из микроводорослей, составляет 6477,440 сум.

Таблица 3

Экономический регламент опытного производства получения масел из
микроводорослей

Показатели	Единица измерения	Культивирование в фотобиореакторе (20 л стеклянных балонах)	Затраты, сум	Культивирование микроводорослей в открытых лотках	Затраты, сум
Минеральные вещества	кг	0,106	4367	88,1	36335,78
Использование воды	л	200	98	40 000	9 800
Электроэнергия	кВт	9,24	2112,3	60,4	13 808
Заработная плата	сум	-	-	-	72 196
Всего:	сум	-	6577,3	-	132139,78
Сырая биомасса	кг	1,599	-	120	-
Сухая биомасса	кг	0,457	-	34,2	132139,78
Общее количество масел	кг	0,272	6577,3	20,4	-
Масло	кг	1	24 110,3	1	6477,440

Для сравнения урожайность высших масличных растений за один вегетационный период составляет: хлопчатник - 366,2 кг/га, подсолнечник - 800 кг/га, соя - 374 кг/га, рапс - 1100 кг/га, а микроводоросли за один вегетационный период (8 месяцев) - 8160 кг/га. Согласно сведениям International monetaryfund-<http://www.inf>. себестоимость 1000 л подсолнечного масла – 794 \$ (США), соевого масла - 855 \$(США), масло рапса – 829 \$ США (табл.4.).

При сравнении себестоимости масел высших растений с экономической эффективностью получения масел из микроводорослей выявлено, что масла микроводорослей обходятся намного дешевле, чем масла сои, подсолнечника и рапса. Кроме этого, преимуществом микроводорослей как продуцентов, является высокое содержание липидов, большая скорость роста, возможность направленного биосинтеза, использование для их выращивания фотобиореакторов и открытых водоемов.

Таблица 4

**Сравнительный регламент опытного производства получения масел из
масличных растений и микроводорослей**

Микроводоросли			Хлоп- чатник	Подсол- нечник	Соя	Рапс
Показатели	Единица измерения	Культиви- рование микровод- орослей в открытых лотках (15 сут)				
Суспензия	литр	40 000	-	-	-	-
Сухая биомасса	кг	34,2	-	-	-	-
Масло	кг	20,4	-	-	-	-
Затраты	сум	132139,78	-	-	-	-
Маслав год	кг/гектар	8160	366,2	800	374	1100
1 тонна масел	сум	6 477440 (781 \$)	7 114280 (858 \$)	794 \$ (февраль 2018г.)	855 \$ (февраль 2018 г.)	829 \$ (февраль 2018г.)
1 кг масел	сум	6477,440	7114,28	6578,60	7084	6868,5

Таким образом, по совокупности полученных результатов нами были выделены и идентифицированы высокопродуктивные местные штаммы микроводорослей, так как идентификация является необходимым процессом для получения чистых культур и представляет первый шаг на пути к отбору потенциальных штаммов микроводорослей для производства биодизеля. Оптимизированы условия культивирования для наибольшего выхода биомассы и липидов, определены количественный и качественный состав жирных кислот культур, исследовано индуцирование синтеза липидов в микроводорослях с использованием различных методологических подходов, включая азотное голодание, засоление, pH среды. Следовательно, каждый штамм микроводорослей требует тщательного отбора и оптимизации условий культивирования для того, чтобы увеличить производительность липидов у микроводорослей с целью разработки биотоплива на их основе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенных исследований по диссертации на тему “Высокопродуктивные липид-продуцирующие микроводоросли узбекистана и регуляция биосинтеза масел для получения биодизеля” представлены следующие выводы:

1. Впервые идентифицированы наиболее активные штаммы местных микроводорослей, относящихся к роду *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlorococcum*, *Botryococcus*, *Chlamydomonas*,

- Pediastrum*, *Coelastrum*, *Stichococcus*, *Asterococcus* из различных регионов Узбекистана.
- По морфолого-культуральным свойствам и на основе 18S рРНК гена идентифицированы высокоэффективные штаммы до видовой принадлежности: *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus armatus* UT39, *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Ankistrodesmus falcatus* UT20.
 - Подобраны оптимальные условия культивирования местных штаммов микроводорослей на среде Чу-13: температура 26-28°C, CO₂ - 2%, освещенность - 4500 лк и pH среды 7,0, что дает повысить накопление биомассы и липидов.
 - Впервые изучена индукция синтеза липидов у эффективных микроводорослей под влиянием стрессовых факторов: азотное голодание, засоление и pH среды. Установлено, что максимальное накопление липидов составляет 72% от общей сухой биомассы у *Ch. macrostigmatum* UT4 под влиянием двух стрессовых факторов одновременно, таких как засоление (400 мМ NaCl) и pH среды 4,0.
 - Впервые исследован спектр жирных кислот у продуктивных местных микроводорослей *Chlorococcum macrostigmatum* UT4, *Chlorococcum macrostigmatum* UT8, *Scenedesmus armatus* UT39, *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Ankistrodesmus falcatus* UT20. Выявлено, что основными среди насыщенных кислот является пальмитиновая кислота (16:0) от 25.0 % до 39.43 %, а содержание стеариновой (18:0) от 5.44 % до 14.12 %. В составе всех образцов присутствуют биологически активные полиненасыщенные жирные кислоты: 18:3 ω 6 – гамма линоленовая и 18:4 ω 3 – стеаридоновая кислоты. Суммарное содержание насыщенных и ненасыщенных жирных кислот составляет от 33.18% до 46,91% и от 47.7% до 66.82%, соответственно.
 - Определено, что общие затраты при культивирования *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 в открытом лотке (бассейне) с объемом 40 м³ составляет 132139,78 сум, а себестоимость 1 кг масла – 6477,440 сум.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSC.27.06.2017.B.38.01 AT THE INSTITUTE OF MICROBIOLOGY AND
NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN
INSTITUTE OF MICROBIOLOGY**

SAFAROV IBROKHIM VALIYEVICH

**HIGH-PRODUCTIVE LIPID-PRODUCING MICROALGAE OF
UZBEKISTAN AND REGULATION OF OIL BIOSYNTHESIS FOR
PRODUCTION OF BIODIESEL**

03.00.12 –BIOTECHNOLOGY

**DISSERTATION'S ABSTRACT
of the Doctor of Philosophy (PhD)of biological sciences**

Tashkent – 2019

Subject of this dissertation for a degree of Doctor of Philosophy (PhD) has been registered under no. B2017.1.PhD/B41 by the Supreme Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The doctoral dissertation has been conducted at the Institute of Microbiology.

The abstract of the dissertation is posted in three (Uzbek, Russian, English (abstract)) languages on the website of the Scientific Council (microbio@academy.uz) and on the website «Ziyonet» information and educational portal (www.ziyonet.uz).

Scientific supervisor:

Shakirov Zair Saatovich

Doctor of sciences in biology

Official opponents:

Mirzaraxmetova Dilbar Tuxtamurotovna

Doctor of sciences in technology

Ibodov Komil

Doctor of Philosophy on biology, Docent

Leading organization:

Institute of Botany

The defense of the dissertation will take place on «__» _____ 2019 at __ the meeting of the Scientific Council DSc.27.06.2017.B.38.01 of Institute of Microbiology and National University of Uzbekistan (Address: 100128, Tashkent, 7B A.Kadyri str., conference hall 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 № ____ (Address: 100128, Tashkent, 7B A.Kadyri str. Phone: (+99871) 241-92-28, (+99871) 241-71-98, Fax: (+99871) 241-92-71), e-mail: microbio@academy.uz).

The abstract of the dissertation is distributed on «__» _____ 2019.
(protocol at the register № _____ dated by «__» _____ 2019).

Aripov Takhir Fatikhovich

Chairman of the scientific council awarding scientific degrees, Dr.Sc.B., Professor, Academician

Juraeva Roxila Nazarovna

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

Gulyamova Tashkhan Gafurova

Chairman of the scientific seminar under the scientific council awarding scientific degrees, Dr.Sc.B., Professor

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work determination of the potential for lipid synthesis of local microalgae strains water samples from various regions of Uzbekistan, as well as the preparation of biodiesel from microalgae oils in laboratory conditions.

The objects of the research work object of the research is the local microalgae strains of the genus *Scenedesmus*, *Chlorococcum*, *Coelastrum*, *Chlamydomonas*, *Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Botruococcus*, *Asterococcus* and *Pediastrum* isolated from various water basins of Uzbekistan.

Scientific novelty of the research is as follows:

164 active local microalgae strains were isolated from water samples from various water basins of Uzbekistan on the basis of morphological and cultural properties by the formation of biomass and lipids of the genus *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Chlorococcum*, *Botruococcus*, *Chlamydomonas*, *Pediastrum*, *Coelastrum*, *Stichococcus*, *Asterococca*;

based on the 18S rRNA gene, the most active local microalgae strains *Scenedesmus quadricauda* UT4, *Scenedesmus armatus* UT39 and *Ankistrodesmus falcatus* UT20 were identified. and their phylogenetic tree based on DNA analysis;

based on the fact that the fatty acids and triglycerides of the cultures are similar to that of cottonseed oil when compared with the results of the ICF analysis, and chromatography prevails in the total lipids content of triglycerides Rf;

according to spectrochromatography for the first time, they contain about 7-17 fatty acid components, most of which are hexadecane or polymitic acid (16: 0) from 25.0% to 39.43%, and significantly stearin or octadecane (18: 18%). 0) Acids, unsaturated acids octadecatrien (18: 1) and alpha-octadecatrienic acids have been proved to be in the range of 36.64% to 53.75%;

the first time, 59.7% of lipids were extracted from the *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 local microalgae cell contents against dry biomass, with 67.3% biodiesel produced by lipid peroxidation.

Implementation of research results. Based on the scientific results of high biomass and lipid intake from microalgae:

specimens of Algae Pure Algae from a variety of watersheds of Uzbekistan A-7-064 are used in the design of aquatic and biodegradable cyanobacteria synthesis of phytohormones for increasing crop yields in saline and pesticide soils in Uzbekistan. Proceedings of the Academy of Sciences of May 2, 2018 No. 4 / 1255-1140). As a result, it was possible to analyze the data on determining the ecological characteristics of reservoirs when compiling a list of hydrobionts in water bodies;

highly biomass and lipid-producing strains *Chlorococcum macrostigmatum* UT4 have been introduced into wet biomass production through industrial

reproduction in open and closed system breeding pools (Association of Alternative Fuel and Energy Enterprises of the Republic of Uzbekistan No. 494 dated May 10, 2018). As a result, this biomass allowed to determine 558 kg of dry biomass and 259.4 kg of lipid from its composition;

5 liters of triglyceride were extracted by pereeterification and mixed with 20% diesel fuel into the Kingchai - KC168F water lifting pump (Bulletin of the Association of Alternative Fuel and Energy Enterprises of the Republic of Uzbekistan No. 494 dated May 10, 2018). As a result, using 20% on diesel fuel, the cost-effectiveness increased by 2% compared to the existing diesel fuel.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of the introduction, six chapters, and bibliography. The volume is 118 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I Часть: Part I)

1. Сафаров. И. В. Выделение и культивирование микроводорослей для производства биодизеля // Узбекский биологический журнал. спец. выпуск: микробиология. Ташкент, 2012. С.57-59 (03.00.00; № 5).
2. Шакиров З.С., Кадырова Г.Х., Сафаров. И. В. Таксономия и некоторые свойств местных микроводорослей // Доклады Академии Наук РУз. – Ташкент, 2013. № 5. С.42-44 (03.00.00; № 2).
3. Шакиров З.С., Сафаров. И. В., Кадырова Г.Х. Микросувўтларнинг ўсиши-ривожланиши ва липид ҳосил қилишига азотнинг таъсири // Доклады Академии Наук РУз. – Ташкент, 2016. №6, С.81-83(03.00.00; № 2).
4. Сафаров. И. В., Г. Х. Кадырова., З.С. Шакиров *chlorococum* ва *scenedesmus* авлоди микросувўтларининг ёғ ҳосил қилишига ҳароратнинг таъсири // Аграр фани хабарномаси Тошкент, 2016. №4, С.102-105 (03.00.00, № 8).
5. З.С. Шакиров., Г.Х. Кадырова., И. В. Сафаров. изучение влияния показателей рН среды на образование биомассы и липидов у микроводорослей // Узбекский Биологический Журнал. 2016 №5.С.26-28 (03.00.00; № 5).
6. Сафаров. И. В., Шакиров. З.С. Микросувўтлари ҳужайраларида биомасса ва липидлар ҳосил бўлишига ёруғлик интенсивлигининг таъсирини ўрганиш //ҚарДУ хабарлари 2017 й. №3 С. 56-59 (03.00.00; № 11).
7. Шакиров. З.С. Сафаров. И. В., *Chlorella*, *Chlorococum* ва *Scenedesmus* авлоди микросувўтларининг морфологик-физиологик ҳамда айрим хусусиятлари //ҚарДУ хабарлари 2017 й. №4 С. 41-44(03.00.00; № 11).
8. Safarov I.V. A. K. Abdullaev, N. A. Khujamshukurov and Zair S. Shakirov. Influence of Temperature and CO₂ on the Growth and Accumulation Oil of Microalgae//British Journal of Applied Science & Technology 10(3):1-9, 2015 (Research Gate, IF- 0.19).

II бўлим (II часть; II Part)

9. Zair S.Shakirov, Gulchekhra Kh.Kadirova, Safarov I.V. Nortoji A.Khujamshukurov Isolation and identification of lipid - producing microalgae of Uzbekistan Environmental Science An Indian Journal ESAIJ, 9(12), 2014.[405-409].
10. Кадырова Г.Х., Шакиров З.С., Сафаров. И. В. Халилов И.М Выделение и культивирование микроводорослей Узбекистана для производства

- биодизеля daRostim-2012 микробные биотехнологии: актуальность и будущее. Киев, Украина, 2012г. Ноябрь С. 289-290.
11. Кадырова Г.Х., Шакиров З.С. Сафаров. И. В. Выделение и некоторые свойства микроводорослей и цианобактерий Узбекистана Тезисы докладов конференции молодых ученых «Биология наука XXI века»,Россия, 2012. С. 39-40.
 12. Шакиров З.С., Кадырова Г.Х., Халилов И.М Сафаров. И. В. Скрининг высокопродуктивных липид продуцирующих микроводорослей и цианобактерий Узбекистана V съезд микробиологов Узбекистана. Тезисы докладов. Ташкент, 12-13 октябрь, 2012 г. С. 62.
 13. Сафаров. И. В. Таксономия микроводорослей из различных экосистем Узбекистана биология – наука XXI века: 17-я Международная конференция молодых ученых Россия, 2013г. С.556-557.
 14. Safarov I.V. Shakirov Z.S., Khuzhamshukurov N.A., Yunusova N.R. “Phytobiotechnology Prospects for Improving the Quality of Life in the North” Microalgae: raw material for biofuels//2nd International Conference “Phytobiotechnology Prospects for Improving the Quality of Life in the North” Yakutia, Russia, October 6-10, 2014. –P.81
 15. Сафаров. И. В. Шакиров З.С. Микросувётларининг хужайраларида липид ҳосил бўлишига шўрланишнинг таъсири Микроорганизмы и Биосфера Международная симпозиум MICROBIOS- 2015 Ташкент, 25-27 ноябрь 2015 г. С. 156-157.
 16. И.В.Сафаров., З.С. Шакиров., Г.Ҳ.Қодирова Микросувётларининг биомасса ва липид ҳосил қилишига гетеротроф озуқа мухитида ўстириш шароитининг таъсири «современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии» Центр геномики и биоинформатики АН РУз 18 мая 2016 г. С. 210-211.