DOI 10.66073/ReFocus-Conf/3010087

ISSIQ BULOQ VA PAXTA RIZOSFERASIDAN AJRATILGAN BAKTERIYALARNING BIOKIMYOVIY XUSUSIYATLARI VA FERMENTATIV FAOLLIGINI BAHOLASH

Nazarova Malika Husan qizi *stajyor-tadqiqotchi*, **Karimov Husniddin Xolmamatovich** *PhD, katta ilmiy xodim*, **Azimova Nodira Shoim qizi** *PhD, katta ilmiy xodim*
O‘zRFA Mikrobiologiya Instituti, Toshkent

Annotatsiya: Ushbu tadqiqotda Qashqadaryo viloyati Koson tumanidagi Rayim So‘fi issiq bulog‘idan ajratilgan *Geobacillus sp. B1* hamda paxta rizosferasidan olingan Bacillus sp. M11, izolyatlarining morfologik, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlari o‘rganildi. Izolyatlarning Gram bo‘yicha bo‘yalishi, katalaza faolligi, kazein, kraxmal va lipid gidrolizi baholandi. Geobacillus sp. B1 50 va 60 °C, *Bacillus* sp. izolyati esa 40, 45 va 55 °C haroratlarda tekshirildi. Natijalarga ko‘ra, *Geobacillus sp. B1*, izolyatlarida kazein hamda kraxmal gidrolizi kuzatildi, lipid gidrolizi esa izolyatlarda salbiy natija berdi. Katalaza sinovida *Geobacillus sp. B1* kuchli ijobiy, ijobiy, *Bacillus sp. M11* esa salbiy reaksiya ko‘rsatdi. Olingan natijalar izolyatlarning fermentativ xususiyatlari turlicha ekanligini ko‘rsatib, ularni keyingi biotexnologik tadqiqotlarda o‘rganish uchun asos yaratadi.

Kalit so‘zlar: termofil bakteriyalar, *Geobacillus*, *Bacillus*, issiq buloq, paxta rizosferasi, katalaza, kazein gidrolizi, kraxmal gidrolizi, lipaza.

Аннотация: В данном исследовании изучены морфологические, физиологические и биохимические свойства бактериального изолята *Geobacillus sp. B1*, выделенного из горячего источника Райим Суфи, расположенного в Касанском районе Кашкадарьинской области Узбекистана, а также трёх изолятов *Bacillus sp. M11*, *Bacillus* sp. B и *Bacillus* sp. C, полученных из ризосферы хлопчатника. Проведена оценка окрашивания изолятов по Граму, каталазной активности и способности к гидролизу казеина, крахмала и липидов. Изолят Geobacillus sp. B1 исследовали при температурах 50 и 60 °C, а изоляты *Bacillus* sp. — при 40, 45 и 55 °C. Установлено, что изоляты Geobacillus sp. B1, *Bacillus* sp. B и Bacillus sp. C проявляли положительные реакции гидролиза казеина и крахмала, тогда как гидролиз липидов не был выявлен ни у одного из четырёх изолятов. В тесте на каталазную активность изолят *Geobacillus sp. B1* продемонстрировал выраженную положительную реакцию, изоляты *Bacillus* sp. B и *Bacillus* sp. C — положительную, а *Bacillus sp. M11* — отрицательную реакцию. Полученные результаты свидетельствуют о различиях в ферментативных свойствах исследованных бактериальных изолятов и служат основой для дальнейшего изучения их биотехнологического потенциала.

Ключевые слова: термофильные бактерии, *Geobacillus*, *Bacillus*, горячий источник, ризосфера хлопчатника, каталаза, гидролиз казеина, гидролиз крахмала, липаза.

Abstract: This study investigated the morphological, physiological, and biochemical characteristics of Geobacillus sp. B1 isolated from the Rayim So‘fi hot spring in Koson District, Kashkadarya Region, Uzbekistan, and three bacterial isolates, *Bacillus sp. M11*, *Bacillus* sp. B, and *Bacillus* sp. C, obtained from the cotton rhizosphere. The isolates were evaluated for their Gram-staining characteristics, catalase activity, and ability to hydrolyze casein, starch, and lipids. *Geobacillus sp. B1* was examined at 50 and 60 °C, whereas the *Bacillus* sp. isolates were tested at

IQTIBOS UCHUN
Nazarova M., Karimov H., Azimova N. Issiq buloq va paxta rizosferasidan ajratilgan bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlari va fermentativ faolligini baholash // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning bugungi holati va rivojlanish istiqbollari: yosh olimlar nigohi: Respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. – Toshkent, 2026. – B. 307–310.
DOI: https://doi.org/10.66073/ReFocus-Conf/3010087

40, 45, and 55 °C. The results showed that *Geobacillus sp. B1*, *Bacillus* sp. B, and *Bacillus* sp. C exhibited positive reactions for casein and starch hydrolysis, while lipid hydrolysis was not detected in any of the four isolates. In the catalase test, *Geobacillus sp. B1* showed a strongly positive reaction, *Bacillus* sp. B and *Bacillus* sp. C exhibited positive reactions, and *Bacillus sp. M11* showed a negative reaction. These findings demonstrate differences in the enzymatic properties of the bacterial isolates and provide a basis for further investigations into their biotechnological potential.

Keywords: thermophilic bacteria, *Geobacillus*, *Bacillus*, hot spring, cotton rhizosphere, catalase, casein hydrolysis, starch hydrolysis, lipase.

Kirish

Termofil mikroorganizmlar yuqori harorat sharoitida o‘sishga moslashgan bo‘lib, tabiiy issiq buloqlar va geotermal muhitlarda keng uchraydi. Ularning termostabil fermentlar ishlab chiqarish xususiyati sanoat biotexnologiyasi va ekologik jarayonlar uchun muhim ahamiyatga ega. Koreya Respublikasidagi beshta issiq buloqdan ajratilgan 29 ta termofil bakterial izolyatning 22 tasida kamida bitta gidrolitik ferment faolligi aniqlangan. Ushbu izolyatlarning 16S rRNK geni asosida identifikatsiyasi hamda amilaza, proteaza va lipaza faolligi o‘rganilgan [1]. *Geobacillus* turkumiga mansub bakteriyalar yuqori haroratli muhitlarga moslashganligi, ayrim shtammlarining termostabil fermentlar ishlab chiqarishi va organik substratlarni parchalash xususiyatlari bilan ajralib turadi. Biroq ularning fermentativ faolligi shtammga qarab farqlanadi [2]. Paxta rizosferasi ham foydali mikroorganizmlarning muhim tabiiy manbalaridan biridir. O‘zbekistonning yarim qurg‘oqchil hududlarida olib borilgan tadqiqotlarda rizosfera bakteriyalarining fermentativ faolligi, haroratga chidamliligi va ayrim fitopatogen zamburug‘larga qarshi antagonistik xususiyatlari o‘rganilgan [3]. Bakteriyalarning biokimyoviy xususiyatlarini baholashda kazein, kraxmal va lipid gidrolizi hamda katalaza sinovi keng qo‘llaniladi. Ushbu tahlillar mos ravishda proteolitik, amilolitik, lipolitik faollik va vodorod peroksidni parchalash qobiliyatini aniqlash imkonini beradi [4, 5].

Tadqiqotning maqsadi — issiq buloq va paxta rizosferasidan ajratilgan bakterial izolyatlarning morfologik, fiziologik hamda biokimyoviy xususiyatlarini baholash va ularning keyingi biotexnologik tadqiqotlar uchun istiqbolli belgilarini aniqlashdan iborat.

Tadqiqot usullari

Tadqiqotda ikki xil tabiiy ekologik manbadan ajratilgan to‘rtta bakterial izolyatdan foydalanildi. Birinchi manba Qashqadaryo viloyati Koson tumanidagi Rayim So‘fi issiq bulog‘idan namuna olingan vaqtda suv harorati 65 °C ni tashkil etdi. Ushbu manbadan ajratilgan bakterial izolyat *Geobacillus sp. B1* sifatida belgilandi. Ikkinchi manba paxta rizosferasi tuprog‘i bo‘lib, undan ajratilgan uchta izolyat *Bacillus sp. M11*, deb belgilandi.

Izolyatlarning haroratga bog‘liq o‘sish xususiyatlarini baholash maqsadida Geobacillus sp. B1 50 va 60 °C haroratlarda, paxta rizosferasidan ajratilgan *Bacillus* sp. izolyatlari esa 40, 45 va 55 °C haroratlarda inkubatsiya qilindi. Inkubatsiya davomiyligi mos ravishda yetti va uch kunni tashkil etdi.

Bakterial kulturalarning koloniya morfologiyasi, mikroskopik tuzilishi va Gram bo‘yicha bo‘yalish xususiyatlari tekshirildi. Biokimyoviy faollik kazein, kraxmal va lipid gidrolizi hamda katalaza sinovi orqali baholandi. Kazein gidrolizi oqsilli substratning parchalanishi, kraxmal gidrolizi esa yod eritmasi yordamida gidroliz zonasining aniqlanishiga asoslandi [4]. Lipolitik faollik lipidli substratning parchalanishi, katalaza faolligi esa vodorod peroksid ta’sirida gaz pufakchalari hosil bo‘lishi orqali qayd etildi [5].

Tadqiqot natijalari va muhokamasi

Kazein gidrolizi sinovida *Geobacillus sp. B1*, izolyatlari ijobiy natija ko‘rsatdi. *Bacillus sp. M11* izolyatida esa ushbu reaksiya aniqlanmadi. Kraxmal gidrolizi bo‘yicha ham xuddi shu uchta izolyatda ijobiy natija qayd etildi. Lipid gidrolizi barcha to‘rtta izolyatda salbiy bo‘ldi. Katalaza

sinovida *Geobacillus sp. B1* izolyatida kuchli ijobiy reaksiya (+++), izolyatlarida ijobiy reaksiya (+), *Bacillus sp. M11* izolyatida esa salbiy reaksiya kuzatildi.

1-jadval. Tanlangan bakterial izolyatlarning biokimyoviy xususiyatlari

Biokimyoviy ko‘rsatkich	Geobacillus sp. B1	Bacillus sp. M11
Kazein gidrolizi (proteolitik faollik)	+	+
Kraxmal gidrolizi (amilolitik faollik)	+	+
Tween 60 gidrolizi (lipolitik faollik)	–	–
Katalaza faolligi	+++	+

Izoh: (+) — musbat reaksiya; (−) — manfiy reaksiya; (+++) — kuchli musbat reaksiya sifatida qayd etilgan.

Issiq buloqdan ajratilgan *Geobacillus sp. B1* izolyati 50 va 60 °C haroratlarda besh kun davomida o‘stirildi. Paxta rizosferasidan ajratilgan uchta *Bacillus* sp. izolyatining o‘sishi 40, 45 va 55 °C haroratlarda uch kun davomida kuzatildi. Paxta rizosferasi izolyatlarining o‘sish darajasi harorat va izolyatga qarab farqlanishi qayd etildi. Ushbu natijalar izolyatlarning harorat sharoitlariga javobi bir xil emasligini ko‘rsatadi. Biroq o‘sishning miqdoriy ko‘rsatkichlari va optimal harorat qiymatlari keltirilmagani sababli, har bir izolyatning optimal o‘sish haroratini ushbu ma’lumotlarning o‘zi asosida belgilab bo‘lmaydi. Paxta rizosferasidan ajratilgan izolyatlarining ijobiy fermentativ faolligi ularni keyingi tadqiqotlarda o‘rganish uchun asos bo‘la oladi. Avvalgi tadqiqotlarda O‘zbekistonning yarim qurg‘oqchil hududlaridagi rizosfera bakteriyalari orasida ferment ishlab chiqaruvchi, haroratga chidamli va ayrim fitopatogenlarga qarshi antagonistik xususiyatga ega shtammlar aniqlangan [3]. Biroq mazkur tadqiqot izolyatlarining antagonistik faolligi tekshirilmaganligi sababli ularni biologik nazorat agentlari sifatida baholash hozircha mumkin emas.

Barcha izolyatlarda lipid gidrolizining salbiy natija berishi qo‘llanilgan tajriba sharoitida lipolitik faollik aniqlanmaganligini bildiradi. Bu bakteriyalarda lipaza fermenti mutlaqo mavjud emasligini anglatmaydi, chunki natijaga substrat turi, oziqa muhiti, inkubatsiya sharoiti va tahlil sezgirligi ta’sir ko‘rsatishi mumkin. Shu bois lipaza faolligini muqobil substratlar va tegishli nazoratlar yordamida qayta tekshirish maqsadga muvofiq.

Katalaza sinovida *Geobacillus sp. B1* izolyatining kuchli ijobiy reaksiya ko‘rsatishi, izolyatlarida esa oddiy ijobiy reaksiya kuzatilishi ularning vodorod peroksidni parchalash xususiyatlari turlicha ekanligini ko‘rsatadi. Shunga qaramay, «+++» belgisi standartlashtirilgan miqdoriy tahlil bilan tasdiqlanmaguncha ferment faolligining aniq ustunligi sifatida talqin qilinmasligi lozim.

Xulosa

Rayim So‘fi issiq bulog‘i va paxta rizosferasidan ajratilgan bakterial izolyatlarning morfologik, fiziologik va biokimyoviy xususiyatlari o‘rganildi. *Geobacillus sp. B1*, izolyatlarida kazein hamda kraxmal gidrolizi ijoeobacillus sp. izolyatida kuchli ijobiy, izolyatlarida ijobiy, *Bacillus sp. M11* izolyatida esa salbiy bo‘ldi.

Olingan bo‘lib, proteolitik va amilolitik faollik mavjudligiga mos kelishi aniqlandi. Barcha izolyatlarda lipid gidrolizi salbiy natija berdi. Katalaza faolligi G natijalar izolyatlarning fermentativ va fiziologik xususiyatlari turlicha ekanligini ko‘rsatdi. Kazein va kraxmalni gidrolizlagan izolyatlar keyingi miqdoriy fermentativ tadqiqotlar uchun istiqbolli hisoblanadi. Ularning optimal o‘sish harorati, fermentativ faolligi, taksonomik mansubligi va fitopatogenlarga qarshi antagonistik xususiyatlarini aniqlash uchun qo‘shimcha tadqiqotlar talab etiladi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Isolation and Characterization of Thermophilic Bacteria from Hot Springs in Republic of Korea. *Microorganisms*. 2022;10(12):2375. https://doi.org/10.3390/microorganisms10122375

2. Current status and applications of genus *Geobacillus* in the production of industrially important products—a review. *PubMed*. 2022. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35229277/
3. Egamberdiyeva D. Plant-growth-promoting rhizobacteria isolated from a Calcisol in a semi-arid region of Uzbekistan: biochemical characterization and effectiveness. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2005;168(1):94–99. https://doi.org/10.1002/jpln.200321283
4. Iverson W. G., Millis N. F. A Method for the Detection of Starch Hydrolysis by Bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*. 1974;37(3):443–446. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1974.tb00460.x
5. Taylor W. I., Achanzar D. Catalase Test as an Aid to the Identification of Enterobacteriaceae. *Applied Microbiology*. 1972;24(1):58–61. https://doi.org/10.1128/am.24.1.58-61.1972
6. Ulucay O., Gormez A., Ozic C. Identification, characterization and hydrolase producing performance of thermophilic bacteria: geothermal hot springs in the Eastern and Southeastern Anatolia Regions of Turkey. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2022;115:253–270. https://doi.org/10.1007/s10482-021-01678-5