

**BUXORO VILOYATI SUV HAVZALARIDAN PROTOKKOK
MIKROSUVO'TLARINI (CHLOROPHYTA) AJRATISH, MORFOLOGIK
IDENTIFIKATSIYA QILISH VA BIOTEXNOLOGIK KO'PAYTIRISH**

Bo'riyev Sulaymon

Buxoro davlat universiteti, professor

Norova Nozima Siroch qizi

Buxoro davlat universiteti, magistr

Tel: +998934534586

e-mail: norovanozima340@gmail.com

Annotatsiya: Ushbu tadqiqot Buxoro viloyatining o'zaro gidrokimyoviy jihatdan tubdan farqlanadigan uchta suv ob'yektidan — Nometan va Kunji qal'a qishloq xo'jaligi kollektorlari hamda Labi hovuz sun'iy suv inshootidan — Protokkok guruhiga mansub mikrosuvo'tlar (Chlorophyta bo'limi) ni ajratish, morfologik identifikatsiya qilish va biotexnologik ko'paytirish masalalariga bag'ishlangan. Dala namunalari bahor (mart–aprel) va yoz (iyul–avgust) fasllarida Apshtein to'ri (diametri 20 sm, to'r o'lchami №76) yordamida yig'ildi. Olingan suv namunalari pH, NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SiO₂, Cu va Zn ko'rsatkichlari kolorimetrik usullar bilan tahlil qilindi. Mikroskopik tekshiruv natijasida beshta avlod vakillari aniqlandi: Chlorella, Scenedesmus, Ankistrodesmus, Pediastrum va Chlorococcum; ulardan Chlorella vulgaris Beijerinck va Scenedesmus obliquus barcha ob'yektlarda yozda aniq dominantlik ko'rsatdi. Ajratib olingan shtammlar to'rtta ozuqa muhitida (Tamiya, Chu-13, Muzaffarov modifikatsiyasi 04 standarti va go'ng filtrati) nazorat sharoitida (25–30 darajali harorat; 16 soat yorug'lik / 8 soat qorong'ulik

fotoperiodi) o'stirildi. Iqtisodiy jihatdan samarali yangi organo-mineral muhit (18.07 belgisi bilan) ishlab chiqildi va sinab ko'rildi. 7-kunga kelib standart 04 muhitda eng yuqori hujayra zichligi (35 mln/ml) qayd etildi; organo-mineral kombinatsiya esa ancha kam xarajat bilan 29 mln/ml ko'rsatkichiga erishdi. Olingan natijalar quruq iqlimli mamlakatlarda akvakultura, chorvachilik va fitoremedatsiya maqsadida yuqori biomassa hosil qiluvchi *Chlorella vulgaris* shtammlarini iqtisodiy jihatdan maqbul sharoitda ko'paytirish imkoniyatini asoslab beradi.

Kalit so'zlar: *Chlorella vulgaris*, mikrosuvo'tlarni ajratish, organo-mineral muhit, biomassa hosildorligi, Chlorophyta, Buxoro viloyati, algologiya.

Аннотация: Данное исследование посвящено вопросам выделения, морфологической идентификации и биотехнологического культивирования микроводорослей группы *Protococcales* (отдел *Chlorophyta*) из трёх водных объектов Бухарской области, принципиально различающихся по гидрохимическим характеристикам: сельскохозяйственных коллекторов Нометан и Кунджи кала, а также искусственного водного сооружения Лаби хауз. Полевые образцы собирались в весенний (март–апрель) и летний (июль–август) периоды с использованием сети Апштейна (диаметр 20 см, размер ячеек №76). В полученных пробах воды показатели pH, NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SiO_2 , Cu и Zn анализировались колориметрическими методами. В результате микроскопического исследования были выявлены представители пяти родов: *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Pediastrum* и *Chlorococcum*; из них ***Chlorella vulgaris* Beijerinck** и ***Scenedesmus obliquus*** показали явное доминирование во всех объектах в летний период. Выделенные штаммы культивировались на четырёх питательных средах (Тамия, Chu-13, модификация Музаффарова стандарта 04 и фильтрат навоза) в контролируемых условиях (температура 25–30 °C; фотопериод 16 часов света / 8 часов темноты). Была разработана и испытана новая экономически эффективная органико-минеральная среда (с обозначением 18.07). К 7-му дню на стандартной среде 04 была зарегистрирована

наибольшая плотность клеток (35 млн/мл); органо-минеральная комбинация достигла показателя 29 млн/мл при значительно меньших затратах. Полученные результаты обосновывают возможность экономически целесообразного культивирования штаммов **Chlorella vulgaris** с высокой биомассой для целей аквакультуры, животноводства и фиторемедиации в странах с засушливым климатом.

Ключевые слова: *Chlorella vulgaris*, выделение микроводорослей, органо-минеральная среда, продуктивность биомассы, Chlorophyta, Бухарская область, альгология.

Abstract: This study is devoted to the isolation, morphological identification, and biotechnological cultivation of microalgae belonging to the Protococcales group (division Chlorophyta) from three water bodies of the Bukhara region that differ fundamentally in their hydrochemical characteristics: the agricultural collectors Nometan and Kunji Qal'a, and the artificial water structure Labi Hovuz. Field samples were collected during spring (March–April) and summer (July–August) using an Apstein net (diameter 20 cm, mesh size No. 76). In the collected water samples, pH, NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SiO₂, Cu, and Zn parameters were analyzed by colorimetric methods. Microscopic examination identified representatives of five genera: *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Pediastrum*, and *Chlorococcum*; among them, ***Chlorella vulgaris* Beijerinck** and ***Scenedesmus obliquus*** showed clear dominance in all water bodies during summer. The isolated strains were cultivated in four nutrient media (Tamiya, Chu-13, Muzaffarov modification standard 04, and manure filtrate) under controlled conditions (temperature 25–30 °C; photoperiod of 16 hours light / 8 hours dark). A new economically efficient organo-mineral medium (designated as 18.07) was developed and tested. By day 7, the highest cell density (35 million/ml) was recorded in standard 04 medium; the organo-mineral combination achieved 29 million/ml at considerably lower cost. The obtained results substantiate the possibility of economically efficient cultivation of high-biomass ***Chlorella vulgaris*** strains for

aquaculture, livestock production, and phytoremediation purposes in countries with arid climates.

Keywords: Chlorella vulgaris, microalgae isolation, organo-mineral medium, biomass productivity, Chlorophyta, Bukhara region, algology.

KIRISH Chlorophyta bo'limiga mansub, Protokkok guruhi sifatida umumlashtirilgan yashil mikrosvuotlar Yer yuzidagi eng biotexnologik ahamiyatli fotosintetik mikroorganizmlar qatoriga kiradi. Bu bir hujayrali yoki kolonial organizmlar yuqori fotosintez samaradorligi, tez o'sish sur'ati va ekologik jihatdan kuchli moslashuvchanligi bilan ajralib turadi; ular oligotorf tog' ko'llaridan tortib yuqori darajada evtroflashgan qishloq xo'jaligi oqova suvlarigacha bo'lgan xilma-xil suv muhitlarini egallay oladi [1, 2].

Protokkok guruhi vakillari ichida eng ko'p o'rganilgan va sanoat e'tiborini tortgan Chlorella vulgaris Beijerinck (1890) hisoblanadi. Uning sferik hujayralari (diametri 2–12 mkm) silliq sellyuloza qobig'i bilan o'ralgan bo'lib, optimal sharoitda 24 soat ichida avtosporulatsiya yo'li bilan 4 ta qiz hujayra hosil qiladi [3]. Biokimyoviy tarkibi ayniqsa muhim: quruq massada oqsil ulushi 40–50%, uglevod 25–30%; bundan tashqari 10 dan ortiq vitamin va insonning o'zi sintez qila olmaydigan muhim aminokislotalar mavjud [4, 5]. Aynan shu tarkib uning nutritsevtik ingredient, chorva oziqasi va bioaktiv metabolitlar xomashyosi sifatida keng qo'llanilishiga asos bo'ladi.

Protokkok guruhi svuotlarining biotexnologik ahamiyati oziqlanish sohasidan ancha kengroq. Ularning CO₂ ni biriktirish, nitrat va fosfatlarni assimilyatsiya qilish hamda og'ir metal ionlarini (Zn, Mn, Cu) yutib olish qobiliyati ularni qishloq xo'jaligi va sanoat oqova suvlari fitoremedatsiyasida kuchli vosita sifatida belgilaydi [6, 7, 8]. Bir qator tadqiqotlar C. vulgaris 14 kunlik kultivatsiya davomida modellashtirish sharoitida oqova suv tarkibidagi nitratlarning 85,6% ini va fosfatlarning 95% ini o'zlashtirishi, bir vaqtda esa xlorofilli (quruq massada >8,5%) va fenol antioksidantlarga boy biomassa hosil qilishini isbotlagan [9]. Energetika yo'nalishida esa azot tanqisligi strategiyasi orqali hujayralar ichidagi lipid miqdorini quruq massada 30–50% gacha ko'tarish mumkin, bu ko'rsatkich esa uchinchi

avlod bioyoqilg'i ishlab chiqarishda tijorat nuqtai nazaridan maqbul chegaraga yaqin [10, 11].

Shu kabi global tadqiqot rivojlanishiga qaramasdan Markaziy Osiyo suv ob'yektlari, xususan sho'rlanish, sug'orish ta'sirida minerallanish va issiqlik stressi kuzatiladiganlari, Chlorophyta xilma-xilligi bo'yicha yetarlicha o'rganilmagan. Buxoro viloyati bu borada alohida o'rganishga loyiq ob'ekt hisoblanadi: qishloq xo'jaligi kollektorlari yuqori minerallanish darajasiga (3,5–4,0 g/l) ega, Labi hovuz sun'iy suv inshooti esa keskin farqlanuvchi fizik-kimyoviy rejimga ega. Ergashev, Muzaffarov, Taubaev va Bo'riyev kabi O'zbekiston olimlari mintaqa suv havzalarining umumiy fitoplankton tarkibini o'rgangan bo'lsa-da, mahalliy Protokkok shtammlarining biotexnologik xarakterini — jumladan kultivatsiya kinetikasi va biomassa ishlab chiqarishning iqtisodiy samaradorligini — o'rganishga qaratilgan tizimli tadqiqot amalga oshirilmagan.

Ushbu tadqiqot quyidagi vazifalarni hal etishga qaratilgan: (i) Buxoro viloyatining fizik-kimyoviy jihatdan farqlanuvchi uchta suv ob'yektidan ikkita mavsumda Protokkok guruhiga mansub organizmlarni ajratish va morfologik identifikatsiya qilish; (ii) suvning fizik-kimyoviy ko'rsatkichlari bilan yashil suvo'tlar jamoasining tarkibi o'rtasidagi bog'liqlikni aniqlash; (iii) *Chlorella vulgaris* biomassa hosildorligini to'rt ozuqa muhitida taqqoslash; (iv) yarim ishlab chiqarish masshtabida qo'llash uchun iqtisodiy jihatdan maqbul organo-mineral muhitni ishlab chiqish va sinab ko'rish.

2. MATERIAL VA METODLAR

2.1. Tadqiqot ob'yektlari va namuna yig'ish tartibi

Namunalar Buxoro viloyatining gidrologik va trofik jihatdan farqlanuvchi uchta ob'yektidan olingan (1-jadval). Geografik koordinatalar WGS-84 tizimi asosida GPS qurilmalari yordamida aniqlangan.

Buxoro viloyati namuna olish ob'yektlarining tavsifi 1-jadval.

Ob'yekt	Turi	Koordinatalar (WGS-84)	O'lchami	Minerallanish (g/l)	Namuna nuqtalari
Nometan kollektori	Qishloq xo'jaligi oqova suvi	39.802–39.823 SH.K., 64.345– 64.375 Sh.U.	~18–20 km	3,5–4,0	Bosh, o'rta, oxirgi qism
Kunji qal'a kollektori	Ko'p tarmoqli oqova suv	39.755–39.792 SH.K., 64.380– 64.393 Sh.U.	~22–26 km	3,6–4,0	Bosh, o'rta, oxirgi qism
Labi hovuz sun'iy suv inshooti	Sun'iy bezak hovuzi	39.773 SH.K., 64.420 Sh.U.	42×36 m; chuqurligi 4,5–5 m	Past	Shimoliy, markaziy, janubiy

Dala namuna yig'ish ikki mavsumda amalga oshirildi: bahorda (mart oxiri – aprel o'rtalari, suv harorati 10–20 daraja) va yozda (iyul oxiri – avgust boshi, 26–32 daraja). Har bir belgilangan nuqtadan 3 ta takroriy namuna olindi. Kollektorlarda Apshtein to'ri (diametri 20 sm, to'r o'lchami №76) oqimga qarshi 10–20 daqiqa ushlab turildi; Labi hovuzda esa to'r suv yuzasida 10–15 sm chuqurlikda 10–15 metr masofada surildi. Namunalar yuza (10–15 sm) va o'rta qatlamdan (0,5–1,0 m) alohida olindi, shisha

kolbalarga solib ob'yekt, chuqurliq, sana va takror kodi bilan belgilandi hamda darhol 4% li (v/v) formaldegid eritmasi bilan fiksatsiya qilindi.

2.2. Suv namunalarini fizik-kimyoviy tahlil qilish

Dala sharoitida suvning harorati (simob termometri, $\pm 0,5$ daraja), oqim tezligi (flotator usuli, $v = S/t$) va pH ko'rsatkichi (LPU-01 pH metr, $\pm 0,05$ birlik) o'lchandi. Laboratoriyada kolorimetrik usullar bilan quyidagilar aniqlandi: NH_4^+ — indofenol va Nessler modifikatsiyalangan usuli; NO_2^- — Griss reagenti usuli; NO_3^- — kadmiy bilan qaytarish va Griss reaksiyasi; PO_4^{3-} — molibden ko'ki usuli; SiO_2 — geteropolimolibdat usuli; Cu va Zn — dietilditiokarbamat kompleks hosil qilish usuli. Barcha tahlillar uch takrorlikda bajarildi.

2.3. Mikroskopik identifikatsiya

Suv namunalari 24–48 soat sedimentatsiyaga qoldirildi; yuza qatlamidan ehtiyotkorlik bilan cho'kmadan ajratildi va konsentrat mikroskop buyum oynasiga qo'yildi. Morfologik identifikatsiyada seston usuli (Apshtein to'ridan olingan konsentratni bevosita tekshirish) va sedimentatsiya usulidan birgalikda foydalanildi. Hujayralarning tirikligini aniqlash uchun 1% li Lugol eritmasi ishlatildi. Tekshiruv XDS-3 inversiya va B-380 to'g'ri mikroskoplarida $\times 40$ – $\times 100$ ob'yektivda olib borildi. Turlarni aniqlashda Anisimova va Gololobovalarning metodologik qo'llanmasi, AlgaeBase onlayn taksonomik ma'lumotlar bazasi va standart monografiyalardan [12, 13, 14] foydalanildi.

2.4. Sof kultura ajratish

Sof kulturalar agar-agar (1,5–2,0%) bilan quyulashtirilgan ozuqa muhitiga zigzag chizish (streak plate) usuli orqali olindi. Ekish oldidan mikrobiologik halqa spirt lampasida alangalab sterillandi. Ozuqa moddalarining tugab qolishini oldini olish maqsadida koloniyalar har 5–6 kunda yangi suyuq muhitga ko'chirib ekildi. Sof kultura holati begona turlarning yo'qligini qayta mikroskopik tekshiruv bilan tasdiqlash orqali aniqlandi.

2.5. Ozuqa muhitlari tayyorlash

To'rtta kultivatsiya muhiti baholandi (2-jadval): Muzaffarov modifikatsiyalangan 04 standarti (nazorat), Tamiya muhiti, Chu-13 muhiti va go'ng filtrati. Qo'shimcha ravishda yangi organo-mineral muhit (18.07 kodi bilan belgilangan) ishlab chiqildi: u faqat tijorat miqyosida mavjud bo'lgan mineral tuzlardan iborat: NaHCO_3 (0,35 g/l), KNO_3 (0,25 g/l), $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ karbamid (0,06 g/l), $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (0,07 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,15 g/l) va CaCl_2 (0,03 g/l). Fosfat ionlari bilan cho'kma hosil qilmaslik uchun CaCl_2 eng oxirgi qo'shildi. pH limon kislotasi yoki NaHCO_3 bilan 7,0–7,5 ga keltirildi. Kombinatsiyalangan organo-mineral variant uchun 100 ml go'ng filtrati (1:15 nisbatda suvda ezilib 2–3 kun qoldirilgan, so'ngra 2 qavat doka va qog'oz filtdan o'tkazilgan) 900 ml kamaytirilgan 18.07 mineral bazasiga (mineral tuzlar miqdori taxminan 50% kamaytirilib) aralashtirildi.

Chlorella vulgaris kultivatsiyasida foydalanilgan ozuqa muhitlarining tarkibi

2-jadval

Komponent	Muzaffarov 04 (mg/l)	Tamiya (mg/l)	Chu-13 (mg/l)	18.07 mineral (mg/l)
KNO_3	100–200	1900	200	250
NH_4NO_3	—	1650	—	—
$\text{K}_2\text{HPO}_3 / \text{KH}_2\text{PO}_4$	20–40	170	40	—
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (ammofos)	—	—	—	70
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	50–100	370	200	150
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	—	440	54	30
NaHCO_3 (osh sodasi)	—	—	—	350

CO(NH ₂) ₂ (karbamid)	—	—	—	60
FeSO ₄ / FeCl ₃	1,5–2,0	27,8	10,0	—
Iz elementlari eritmasi	1 mg/l	Kiritilgan	0,5 ml/l	—
Go'ng / tuproq ekstrakti	1–5% (ixtiyoriy)	—	—	— (alohida variant)

2.6. Kultivatsiya sharoitlari va hujayra zichligini aniqlash

Inokulantlar (hujayra zichligi taxminan 2×10^6 hujayra/ml) 1:9 (h/h) nisbatda sterillangan muhit solingan 300 ml kolbalarga qo'shildi. Uchta yorug'lik/harorat kombinatsiyasi sinaldi: (a) 12 soat yorug'lik / 12 soat qorong'ulik, 20 daraja; (b) 16 soat yorug'lik / 8 soat qorong'ulik, 25 daraja; (v) 24 soat uzluksiz yorug'lik, 30 daraja. Yoritish sovuq-oq lyuminessent lampalar bilan taxminan 2000 lx intensivlikda ta'minlandi. Hujayra zichligi 3- va 7-kunlarda Goryayev kamerasi (gematokrometr) yordamida x40 ob'yektivda sanalib aniqlandi; natijalar million hujayra/ml (mln/ml) da ifodalandi. Iqtisodiy samaradorlik $\Delta X = X_{\text{tajriba}} - X_{\text{nazorat}}$ ko'rsatkichi orqali baholandi.

3. NATIJALAR

3.1. Namuna olish ob'yektlarining fizik-kimyoviy xususiyatlari

Ikki kollektor tizimi va sun'iy hovuz o'rtasida suv kimyosi bo'yicha sezilarli farqlar qayd etildi (3-jadval). Har ikki kollektor qishloq xo'jaligi oqova suvlari ta'sirida 3,5–4,0 g/l minerallanish ko'rsatkichini namoyon etdi; Labi hovuz esa ancha past ion kuchiga ega bo'ldi. Kollektor pH ko'rsatkichi (6,69–8,0) butun kuzatuv davomida neytralmoyil ishqoriy chegarada saqlanib, Protokkok suvo'tlarining o'sishi uchun qulay muhit ta'minladi. Labi hovuzda yozda pH 7,5–9,5 gacha ko'tarildi; bunga sabablar: 30 daraja'dan yuqori haroratda CO₂ ning atmosferaga ajralishi, bikarbonatning parchalanishi va fotosintez faoliyatining intensivlashuvi.

Namuna olish ob'yektlarining fizik-kimyoviy ko'rsatkichlari (bahor va yoz mavsumlari o'rtacha qiymatlari). **3-jadval**

Ko'rsatkich	Labi hovuz	Kunji qal'a kollektori	Nometan kollektori
pH (bahor)	7,5–8,0	6,69–8,0	6,5–7,8
Harorat yozda (daraja)	25–30	22–25	20–22
Oqim tezligi (m/s)	— (turg'un)	0,35–0,40	0,40–0,45
NH ₄ ⁺ (mg/l)	0,40	0,80	0,73
NO ₂ ⁻ (mg/l)	0,04	0,10	0,08
NO ₃ ⁻ (mg/l)	3,0	8,0	6,7
PO ₄ ³⁻ (mg/l)	0,22	0,60	0,50
SiO ₂ (mg/l)	4,0	6,0	5,5
Cu (mg/l)	0,01	0,02	0,021
Zn (mg/l)	0,02	0,07	0,05

Kollektorlarda NO₃⁻ (8,0 mg/l gacha) va PO₄³⁻ (0,60 mg/l gacha) kontsentratsiyasining hovuzga nisbatan yuqori bo'lishi qishloq xo'jaligi sug'orish oqimlari bilan to'g'ridan-to'g'ri bog'liq. Bu ozuqa moddalar miqdori yozgi Chlorella gullanishini rag'batlantiruvchi, lekin fitotoksik chegaradan past darajada qoluvchi oraliqda joylashgan. Og'ir metal kontsentratsiyalari (Cu 0,01–0,021 mg/l; Zn 0,02–0,07 mg/l) past bo'lib, mikrosuvo'tlarning iz element ehtiyojini qondirish darajasida edi va Chlorella

shtammlarining Zn ni 28–30%, Mn ni 60–63,5% gacha kamaytirish qobiliyati bilan uyg'un [8]. Erigan kislorod miqdori bahorning 10–12 mg/l dan yozda 4–5 mg/l ga tushdi; bunga biologik kislorod sarfining ortishi, yuqori haroratda eruvchanligi pasayishi va to'plangan CO₂ ta'siri sabab bo'ldi.

3.2. Protokkok guruhiga mansub suvo'tlarning mavsumiy dinamikasi

Mikroskopik tekshiruv barcha uchta ob'yektda Protokkok guruhi Chlorophyta ning beshta avlodini aniqladi (4-jadval). Chlorella (*C. vulgaris*, *C. pyrenoidosa*) va Scenedesmus (*S. obliquus*, *S. acuminatus*, *S. acutiformis*) harorat va yoritilganlik kuchaygan sari bahordangacha yozga o'tar davomda ulush jihatdan barqaror o'sishni ko'rsatdi. Bahorgi jamoa xilma-xilroq bo'lib, kollektorlarda Ankistrodesmus vakillari ham ko'dominantlikni egalladi (25–29%); bunga ozuqa moddalari kontsentratsiyasining yuqoriligi va issiqlikni afzal ko'ruvchi Chlorella shtammlariga qulay bo'lmagan salqin harorat sabab bo'ldi. Yozda esa Chlorella vulgaris barcha uchta ob'yektda yakka dominant sifatida ajralib chiqdi.

4-jadval.

Protokkok guruhiga mansub avlodlarning mavsumiy uchrovchanlik ulushi (% da; barcha uchta ob'yekt bo'yicha yig'indi ma'lumotlar; har mavsumda n = 9 namuna nuqtasi).

Avlod / vakillik turlari	Bahor (% ulush)	Yoz (% ulush)
<i>Chlorella</i> (<i>C. vulgaris</i> , <i>C. pyrenoidosa</i>)	26–28	34–36
<i>Scenedesmus</i> (<i>S. obliquus</i> , <i>S. acuminatus</i> , <i>S. acutiformis</i>)	22–24	28–31
<i>Ankistrodesmus</i> (<i>A. acicularis</i> , <i>A. arcuatus</i> , <i>A. fusiformis</i> , <i>A. minutissimus</i>)	22–29	9–13

<i>Pediastrum (P. boryanum, P. simplex)</i>	15–18	9–11
<i>Chlorococcum (C. infusionum)</i>	9–10	14–16

Yozda *Chlorella vulgaris* tez moslashuvchanligi orqali yuqori harorat (25–32 daraja), ko'tarilgan pH (7,5–9,5) va kamaygan erigan O₂ (4–5 mg/l) sharoitida avtosporulatsiyani kuchaytirish hisobiga ustunlikni qo'lga oldi. *Scenedesmus obliquus* quyosh nuridan himoya qiluvchi koloniya tuzilishi va kuchsiz ishqoriy muhitga chidamliligi tufayli ko'dominantlikni saqladi. *Ankistrodesmus* va *Pediastrum* vakillari yozda keskin kamaydi; bu ularning harorat va pH o'zgarishiga sezgirroqligi bilan izohlanadi. Kuzatilgan suksessiya qonuniyatlari O'rta Osiyo va o'xshash quruq iqlimli evtroflashgan suv ob'yektlarida qayd etilgan ma'lumotlarga to'la mos keladi [16, 22].

3.3. Ozuqa muhitlarida kultivatsiya natijalari

To'rtta standart muhit va ikkala yangi formulatsiya ham *Chlorella vulgaris* o'sishini ta'minladi; biroq 7-kundagi hujayra zichligida statistik jihatdan muhim farqlar aniqlandi (5-jadval). 16 soat yorug'lik / 8 soat qorong'ulik fotoperiodi 25–30 darajada barcha muhitlarda 12/12 va 24 soatlik uzluksiz yorug'lik variantlaridan barqaror ravishda ustun keldi. Uzluksiz yoritish dastlab o'sishni tezlashtirdi, ammo 4–5-kunlarda fotoosidlanish stressi alomatlari paydo bo'ldi: madaniyat sariqqa o'tdi, pH ko'rsatkichi o'zgardi va hujayralar ommaviy nobud bo'la boshladi. Bu hodisa yuqori intensivlikda o'stirilgan *Chlorella* uchun CO₂ tanqisligi va fotoingibitsiya bilan bog'liq [17] bo'lib, adabiyotlarda ham tasdiqlangandir.

Turli ozuqa muhitlarida *Chlorella vulgaris* hujayra zichligi (optimal sharoit: 16 soat yorug'lik / 8 soat qorong'ulik; 25–30 daraja; kultivatsiyaning 7-kuni; har variant uchun n = 3 takrorlanish). Delta-X — Muzaffarov 04 nazoratiga nisbat farq **5-jadval**

Ozuqa muhiti	3-kunda hujayra zichligi (mln/ml)	7-kunda hujayra zichligi (mln/ml)	Delta-X nazoratga nisbat	Nisbiy xarajat baholash
Muzaffarov 04 (nazorat)	17,0	35,0	0 (asos)	O'rtacha
Tamiya	16,0	33,0	-2,0	Yuqori
Chu-13	17,0	34,5	-0,5	Yuqori
Go'ng filtrati 1:10	9,0	22,0	-13,0	Juda past
18.07 mineral muhit	11,0	25,0	-10,0	Past
Go'ng filtrati + 18.07 (1:9 h/h)	14,0	29,0	-6,0	O'rtacha

Muzaffarov-04 muhiti eng yuqori biomassa (35 mln/ml) hosil qildi; uni Chu-13 (34,5 mln/ml) va Tamiya (33 mln/ml) yaqindan kuzatib bordi. Bu uchta murakkab mineral muhit o'rtasidagi farq statistik jihatdan ahamiyatsiz bo'lib ($p > 0,05$), pH 7,0–8,0 optimumida saqlanishi shartida maxsus iz elementlari tarkibidan ko'ra makroozuqa ta'minotining (N va P) hal qiluvchi ahamiyatga ega ekanligini ko'rsatadi. Bu natijalar N va P miqdorining bevosita o'sish tezligi va yakuniy biomassaga ta'sirini asoslab bergan Becker [18] hamda biogen elementlar ta'minoti hujayra hajmi va biomassa zichligini oshirishini isbotlagan Markou va Nerantzis [19] xulosalari bilan to'la mos tushadi.

Go'ng filtrati yolg'iz (1:10 suyultirish) 22 mln/ml berdi; bu nazoratning 63% ini tashkil etadi. Pasayroq ko'rsatkich organik azot bioerishuvchiligidan o'zgaruvchanligi, steril bo'lmagan organik matritsada begona mikroorganizmlarning raqobati va chirigan organik moddalar ajratib chiqaruvchi allelopatik birikmalar bilan bog'liq. Shunga

qaramasdan, qishloq xo'jaligi iqtisodiyotida go'ng filtratining deyarli bepulligi uni narx jihatdan nihoyatda afzal qiladi. 18.07 mineral muhit faqat qishloq xo'jaligi do'konlarida mavjud arzon mineral tuzlar (KNO_3 , karbamid, ammosfos, Epsom tuzi, osh sodasi) hisobiga 25 mln/ml hosil qildi. Organo-mineral kombinatsiya (go'ng + 18.07) esa 29 mln/ml ga — nazorat biomassasining 83% iga — erishdi; buni ancha kam xarajat bilan ta'minladi. Muhimi, organo-mineral muhitda o'stirilgan hujayralar xlorofill miqdori, hujayra morfologiyasi (sferik, diametri 2–10 mkm) va qobiq yaxlitligi bo'yicha Muzaffarov-04 hujayralaridan farq qilmadi.

3.4. Yarim ishlab chiqarishga o'tkazish va iqtisodiy baholash

Laboratoriya natijalari asosida bosqichli ko'paytirish protokoli belgilandi: 300 ml Erlenmeyer kolbalari, so'ng 1–10 l akvarium, so'ng 20–50 l fotobioreaktor, nihoyat 100–500 l yarim ishlab chiqarishga mo'ljallangan basseynlar. Har bir hajm bosqichida keyingi o'tishdan oldin 3–5 kunlik moslashuv davri ko'zda tutildi. Organo-mineral muhit ochiq tizimlardagi yarim ishlab chiqarish sharoitida ayniqsa mos keldi: uning past ozuqa kontsentratsiyasi Tamiya yoki Chu-13 ga nisbatan begona organizmlarning ko'payish xavfini kamaytiradi, ayni paytda 25 mln/ml dan yuqori hujayra zichligini ta'minlab beradi. $R = (\text{Xarajat} / \text{Hosil}) \times 100\%$ ko'rinishida hisoblangan iqtisodiy samaradorlik indeksi organo-mineral muhit uchun eng qulay ko'rsatkichni berdi; bu Buxoro kelib chiqishli *Chlorella vulgaris* shtammlarini tijorat miqyosida ishlab chiqarish uchun uning asosiy muhit sifatida qo'llanilishi mumkinligini tasdiqlaydi. Substrat bo'yicha biomassa hosili koeffitsienti $YX/S = (X - X_0) / (S - S_0)$ umumiy kirm xarajati hisobga olinganda organo-mineral kombinatsiyasining eng qulay substrat konversiya samaradorligiga ega ekanligini ko'rsatdi.

Ushbu tadqiqot Buxoro viloyati suv ob'ektlari uchun Protokkok guruhiga mansub mikrosuvo'tlar xilma-xilligi va kultivatsiya biotexnologiyasining birinchi tizimli tavsifini taqdim etadi. *C. vulgaris* va *Scenedesmus obliquus* ning o'rtacha va yuqori minerallanishli antropogen ta'sir ko'rgan chuchuk suv ekotizimlarida dominant tur sifatida qayd etilishi

global adabiyotlar xulosalari bilan to'liq mos keladi [20, 21]. Bahordagi xilma-xil jamoadan yozda *Chlorella* dominantligiga o'tish ko'rinishidagi mavsumiy suksessiya qonuniyati o'xshash quruq mintaqalar suv ob'yektlarida kuzatilgan hodisalarni takrorlaydi; u yerda yuqori yorug'lik va harorat bir hujayrali, tez moslashuvchi turlarning *Pediastrum* singari kolonial shakllar ustidan raqobat ustunligini ta'minlaydi [22].

Nometan va Kunji qal'a kollektorlarida qayd etilgan yuqori NO_3^- va PO_4^{3-} kontsentratsiyalari qishloq xo'jaligi nuqtadan tarqalmaydigan ifloslanish manbai bilan bog'liq. Bu ozuqa yuklami ekologik muammo sifatida baholanishi bilan birga yuqori biomassali mikrosuvo't kultivatsiyasi va fitoremedatsiya uchun qulay sharoit yaratadi. Bu Vazirzadeh va boshqalar [9] xulosalari bilan mos: ular *C. vulgaris* modellashtirilgan oqova suvda nitratlarning 85,6% ini va fosfatlarning 95% ini o'zlashtirishi, shu bilan birga quruq massada 24% dan ortiq oqsil va 8,5% dan ortiq xlorofill tutgan biomassa hosil qilishini isbotlagan. Shu sababli Buxoro viloyati kollektorlarida oqova suvlarni tozalashni biomassa yig'ish bilan birlashtirishning amaliy sinovi ilmiy jihatdan asosli deb hisoblanadi.

18.07 mineral muhitni ishlab chiqish mazkur tadqiqotning metodologik jihatdan muhim hissasi hisoblanadi. Na_2EDTA , MnSO_4 , ZnSO_4 , CuSO_4 kabi maxsus reaktivlarni qishloq xo'jaligi mineral o'g'itlari bilan almashtirish orqali reagent xarajatini Tamiya yoki Chu-13 ga nisbatan 60–70% ga kamaytirish maqbul bo'ldi; biomassa hosili esa proporsional darajada kamaymadi. Bu yondashuv Muzaffarov tomonidan Chu-4 muhitini Markaziy Osiyo sharoitiga moslashtirishda sinab ko'rilgan tamoyilni davom ettiradi. Organo-mineral kombinatsiya xarajatni yanada kamaytiradi va go'ng filtrati hisobiga iz elementlar ta'minotini tiklaydi; bu Li va boshqalar [23] tomonidan *C. vulgaris* ni distillat sanoati oqova suvlarida o'stirish orqali iqtisodiy-ekologik ikki tomonlama foyda ko'rsatilgan strategiyaga o'xshashdir.

Aniqlangan optimal fotoperiod — 25–30 darajada 16 soat yorug'lik / 8 soat qorong'ulik — algologik adabiyotdagi keng konsensus bilan uyg'un. Alharbi va boshqalar [17] 16/8 fotoperiodda maksimal biomassa (ular tizimida 1,486 g/l) qayd etgan; yuqori

intensivlikdagi uzluksiz yoritish esa fotoosidlanish stressini va pH siljishini keltirib chiqaradi. Yun va boshqalar [24] miksotrof sharoitlar lipid va pigment to'planishini kuchaytirishini ko'rsatgan; bu Buxoro shtammlari bilan kelajakda olib boriladigan tadqiqotlar uchun, ayniqsa bioyoqilg'i maqsadida lipidga boy biomassa mo'ljallangan bo'lsa, istiqbolli yo'nalishdir.

Qo'llangan morfologik identifikatsiya yondashuvi — seston va sedimentatsiya mikroskopiyasi bilan Lugol eritmasi yordamida tiriklik baholashni birlashtirib — molekulyar ketma-ketlash imkoniyatlari cheklangan laboratoriyalar uchun yetarlicha ishonchli. Biroq Lortou va boshqalar [25] va Zhang va boshqalar [26] ko'rsatganidek, o'zaro yaqin *Chlorella* va *Chlorella*-ga o'xshash taksonlar — xususan *Chlorella*-*Micractinium* kompleksi — o'rtasidagi morfologik o'xshashlik tur darajasida yangilish identifikatsiyaga olib kelishi mumkin. Kelajakdagi tadqiqotlarda ajratib olingan shtammlarni 18S rRNK va ITS hududlarini ketma-ketlash yo'li bilan molekulyar identifikatsiya qilish zarur.

5. XULOSA

Ushbu tadqiqot O'zbekiston Buxoro viloyati suv havzalari biotexnologik jihatdan ahamiyatli Protokkok guruhiga mansub mikrosuvo'tlar xilma-xilligini o'z ichiga olishini, *Chlorella vulgaris* va *Scenedesmus obliquus* esa farqlanuvchi fizik-kimyoviy gradienti bo'lgan barcha ob'yektlarda dominant va ekologik jihatdan barqaror tur ekanligini isbotlaydi. Quyidagi asosiy xulosalar chiqarildi:

1. Beshta Chlorophyta avlodi aniqlandi: *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Pediastrum* va *Chlorococcum*. Mavsumiy tahlil yozda *Chlorella* dominantligi yo'nalishidagi izchil siljishni ko'rsatdi; buning sababi yuqori harorat va yoritilganlik sharoitidagi fotosintez va issiqlik ustunligidir.

2. Muzaffarov-04 muhiti eng yuqori hujayra zichligiga (35 mln/ml) erishdi; biroq yangi organo-mineral muhit (go'ng filtrati + 18.07 mineral baza, 1:9 h/h) sezilarli darajada past xarajat bilan 29 mln/ml (nazoratning 83%) hosil qildi va hujayra morfologiyasi hamda xlorofill miqdori bo'yicha sifat buzilishi kuzatilmadi.

3. 25–30 daraja harorat va 16 soat yorug'lik / 8 soat qorong'ulik fotoperiodining optimal kultivatsiya rejimi sifatida sinovdan o'tganligi *Chlorella vulgaris* bo'yicha global adabiyot bilan mos keladi.

4. Ishlab chiqilgan organo-mineral muhit mahalliy moslashgan *Chlorella vulgaris* shtammlarini laboratoriya (300 ml) dan yarim ishlab chiqarish (100–500 l) miqyosiga ko'paytirishda ilmiy jihatdan asoslangan, iqtisodiy jihatdan maqbul asos hisoblanadi; u quruq iqlimli Markaziy Osiyo sharoitida akvakultura, chorvachilik oziqa ta'minoti va oqova suvlarni fitoremedatsiya qilish uchun qo'llashga yaroqlidir.

Kelajakdagi tadqiqotlarda 18S rRNK va ITS markerlar orqali ajratib olingan shtammlarni molekulyar identifikatsiya qilish, organo-mineral muhitning yarim ishlab chiqarish masshtabida uzoq muddatli barqarorligi va yig'ilgan biomassaning biokimyoviy tarkibini (oqsil, lipid, xlorofill miqdori) miqdoriy tahlil qilish ustuvor yo'nalish bo'lishi zarur.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:

1. Adl SM, Bass D, Lane CE va boshqalar. Eukaryotlar klassifikatsiyasi, nomenklaturasi va xilma-xilligiga qayta ko'rib chiqishlar. J Eukaryot Microbiol. 2019;66(1):4–119. <https://doi.org/10.1111/jeu.12691>
2. Menon KS, Harilal CC. CO₂ boyitilgan va pH moslashtirilgan Bold Bazal muhitida *Protococcus* o'sishini optimallashtirish. J Algal Biomass Util. 2016;7(3):245–258.
3. Dolganyuk V va boshqalar. Mikrosuvo'tlar: qimmatli bioproduktlarning istiqbolli manbai. Biomolecules. 2020;10(8):1153. <https://doi.org/10.3390/biom10081153>
4. Manankina E, Melnikov S. Xlorelladan qishloq xo'jaligi hayvonlarini oziqlantirish. V Mire Nauki. 2010;(8):5–7.
5. Allaguvatova R, Myasina Y, Zakharenko V, Gaysina L. *Chlorella vulgaris* Beijerinck suvo'tlarini o'stirishning oddiy usuli. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2019;390:012020.

6. Chisti Y. Mikrosuvo'tlardan biodiezel. *Biotechnol Adv.* 2007;25(3):294–306. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001>
7. Ajala SO, Alexander ML, Olaoye OO, Ajayi AA. Oqova suvlarda mikrosuvo'tlarning ozuqa moddalarini o'zlashtirishi va biokimyoviy tarkibi. *Environ Sci Pollut Res.* 2020;27:13567–13580.
8. Mungunkhuyag B, Kim D, Lee J va boshqalar. Mikrosuvo'tlar tomonidan og'ir metallarning bioadsorpsiyasi: mexanizmlar va ekologik qo'llanilish. *Environ Pollut.* 2022;292:118451.
9. Vazirzadeh A, Kazemi R, Mohammadi A. *Chlorella vulgaris* tomonidan fitoremedatsiya: nitrat, fosfat olib tashlash va biomassa sifati. *Bioresour Technol Rep.* 2022;18:123–136.
10. Borowitzka MA. Mikrosuvo'tlardan yuqori qiymatli mahsulotlar: ularning rivojlanishi va tijoratlashtirish. *J Appl Phycol.* 2013;25(3):743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
11. Mata TM, Martins AA, Caetano NS. Mikrosuvo'tlardan biodiezel ishlab chiqarish va boshqa qo'llanishlar. *Renew Sustain Energy Rev.* 2010;14(1):217–232.
12. Komarek J, Fott B. *Chlorophyceae* (Yashil suvo'tlar), *Chlorococcales* turkumi. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag; 1983.
13. Bellinger EG, Sigeo DC. Chuchuk suv suvo'tlari: identifikatsiya va bioindikator sifatida qo'llanilish. Chichester: Wiley-Blackwell; 2010.
14. Richmond A, Hu Q. Mikrosuvo'tlar kulturasida qo'llanmasi: amaliy fikologiya va biotexnologiya. 2-nashr. Oxford: Wiley-Blackwell; 2013.
15. Morando-Grijalva F va boshqalar. Chuchuk suv mikrosuvo'tlar shtammlarining funksional tahlili va biotexnologik imkoniyatlari. *Biotechnol Rep.* 2020;28:e00538.
16. Ziganshina EE, Bulynina SS, Ziganshin AM. Chuchuk suv manbalaridan mikrosuvo'tlar o'sish kinetikasining qiyosiy tahlili. *Front Microbiol.* 2022;13:1–9.

17. Alharbi RM, Alzahrani A, Alghamdi A, Alasmari F. Yorug'lik intensivligi va pH ning *Chlorella vulgaris* biomassasi va lipid ishlab chiqarishiga ta'siri. *J Appl Phycol*. 2024;36:1123–1135.
18. Becker EW. Mikrosuvo'tlar: biotexnologiya va mikrobiologiya. Cambridge: Cambridge University Press; 1994.
19. Markou G, Nerantzis E. Yuqori qiymatli birikmalar va bioyoqilg'i ishlab chiqarish uchun mikrosuvo'tlar: stress sharoitlarida kultivatsiyaga e'tibor bilan sharh. *Appl Energy*. 2013;102:1–12.
20. Lee K va boshqalar. Yuqori lipid tarkibi uchun mikrosuvo'tlarni ajratish va saralash. *Int J Agric Biol Eng*. 2014;7(1):58–64.
21. Ghani N va boshqalar. Kallar Kahar sho'r ko'lidan mahalliy mikrosuvo'tlarni ajratish. *Iran J Biotechnol*. 2020;18(3):e2214.
22. Leelahakriengkrai P, Chaياسo T, Techapun C. To'rtta suv omboridan chuchuk suv mikrosuvo'tlarining antioksidant faolligi va biokimyoviy tarkibi. *Algal Res*. 2021;56:102305.
23. Li F va boshqalar. *Chlorella vulgaris* yordamida oqova suvlarni tozalash va biomassa ishlab chiqarish. *J Environ Manage*. 2021;280:111678.
24. Yun HS va boshqalar. *Chlorella vulgaris* shtammlari uchun miksotrof va geterotrof kultivatsiya strategiyalari. *Algal Res*. 2021;59:102456.
25. Lortou U, Papadopoulou A, Kormas KA. 18S rRNK va ITS hududlari markerlari yordamida yashil mikrosuvo'tlarni molekulyar identifikatsiya qilish. *Phycologia*. 2019;58(4):450–460.
26. Zhang Y va boshqalar. Selenga chidamli *Chlorella vulgaris* HNUFU001 ni ajratish, xarakterlash va fitoremedatsiya imkoniyatlari. *Algal Res*. 2023;72:103104.