БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОТЫ ЗАСУШЛИВЫХ ЗОН УЗБЕКИСТАНА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОБНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ

Кудратуллаева Диёра Отабек кизи
Ташкентский государственный технический университет имени Ислама Каримова
E-mail: 0anorz@gmail.com;
ORCID: 0009-0005-4813-6120

Аннотация. *В статье рассматриваются биотехнологические подходы к скринингу экзополисахарид (ЭПС)-продуцирующих бактерий из почвенной микробиоты засушливых регионов Узбекистана. Целью исследования является выявление перспективных штаммов, способных повышать засухоустойчивость и улучшать плодородие почв. В качестве основных методов использованы микробиологический посев, качественная и количественная оценка ЭПС-продукции, а также молекулярная идентификация. Полученные результаты демонстрируют наличие в почвах Узбекистана ценных ЭПС-продуцентов, перспективных для агротехнологий, и предоставляют практические рекомендации по их применению в сельском хозяйстве.*

Ключевые слова: *экзополисахариды, почвенные микроорганизмы, скрининг, засухоустойчивость, Узбекистан, агробиотехнология.*

Abstract. *The article discusses biotechnological approaches to screening exopolysaccharide (EPS)-producing bacteria from the soil microbiota of arid regions of Uzbekistan. The study aims to identify promising strains capable of enhancing drought tolerance and improving soil fertility. The main methods used include microbiological plating, qualitative and quantitative assessment of EPS production, and molecular identification. The results demonstrate the presence of valuable EPS producers in Uzbekistan's soils, which are promising for agricultural technologies, and provide practical recommendations for their application in agriculture.*

Keywords: *exopolysaccharides, soil microorganisms, screening, drought tolerance, Uzbekistan, agrobiotechnology.*

Annotatsiya. *Ushbu maqolada O'zbekistonning qurg'oqchil hududlari tuproq mikrobiologiyasidan ekzopolisaxarid (EPS) ishlab chiqaruvchi bakteriyalarni skrining*

qilishning biotexnologik yondashuvlari ko'rib chiqilgan. Tadqiqotning maqsadi - qurg'oqchilikka chidamli va tuproq unumdorligini oshirishga qodir bo'lgan istiqbolli shtammlarni aniqlash. Asosiy usullar sifatida mikrobiologik ekish, EPS ishlab chiqarishni sifat va miqdoriy baholash, shuningdek, molekulyar identifikatsiya qo'llanilgan. Olingan natijalar O'zbekiston tuproqlarida agrotexnologiyalar uchun qimmatli EPS-prodyusentlarning mavjudligini ko'rsatadi va ularning qishloq xo'jaligida qo'llanilishi uchun amaliy tavsiyalar beriladi.

Kalit so'zlar: *ekzopolisaxaridlar, tuproq mikroorganizmlari, skrining, qurg'oqchilikka chidamlilik, O'zbekiston, agrobiotexnologiya.*

Введение. В условиях аридного климата, который характерен для большей части территории Узбекистана, остро стоит проблема дефицита водных ресурсов и засоления почв. Последствия высыхания Аральского моря и усиливающаяся антропогенная нагрузка приводят к деградации сельскохозяйственных угодий. Одним из экологически безопасных и перспективных решений является использование микробных биопрепаратов. Ключевую роль в этом процессе играют экзополисахариды (ЭПС) - высокомолекулярные полимеры, секретируемые многими почвенными бактериями [1, 2].

Бактерии, способные расти при низкой водной активности, используют синтез ЭПС как главную защиту от высыхания. Благодаря своей высокой гигроскопичности, ЭПС удерживают влагу вокруг корней, улучшают агрегацию почвенных частиц и способствуют формированию биопленок, защищающих микроорганизмы и корни растений от стресса. В связи с этим ЭПС-продуценты аридных регионов считаются перспективными для агротехнологий, а их поиск в почвах Узбекистана только начинается [3]. Первым шагом в этом направлении является быстрый и недорогой скрининг колоний [4].

Целью. Данной работы является биотехнологический скрининг почвенной микробиоты засушливых зон Узбекистана для выделения активных продуцентов ЭПС и оценки их потенциала для устойчивого сельского хозяйства.

Материалы и методы. Для первичного отбора ЭПС-продуцирующих бактерий из почвенных образцов нами был проведен сравнительный анализ нескольких методов: визуальная оценка мукоидных колоний, скрининг на среде с конго красным, сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), а также выделение ЭПС осаждением этанолом с количественным определением [5].

Для первичного скрининга был выбран метод конго красного агара в варианте, описанном корейской группой Shaffique и соавт. (2023) [6]. Данный

метод был изначально предложен для выявления слизеобразования у стафилококков [7], но адаптирован для почвенных бактерий.

- **Состав среды:** LB-бульон 25 г/л, агар 2%, сахароза 5%, конго красный 0,8 г/л.
- **Условия инкубации:** 5 суток при 30-35 °C.
- **Учет результатов:** появление тёмных, малиновых или чёрных колоний на красном фоне подтверждает наличие полисахаридов.

Для подтверждения результатов использовали сканирующую электронную микроскопию (позволяет увидеть ЭПС-матрицу вокруг клеток) и выделение ЭПС осаждением холодным этанолом с последующим диализом и лиофилизацией. Количественное определение углеводов проводили фенол-серным методом (490 нм, стандарт глюкоза) [8].

Результаты и анализ. В ходе работы были отобраны 14 образцов почвы в окрестностях Кулкудука и Зафарабада (Навоийская область, Учкудукский район) в мае 2025 года. Отбор проб проводился вдоль маршрута от окрестностей Кулкудука (точка 1) через центральную часть (точка 2) к окрестностям Зафарабада (точка 3).

После посева на среду с конго красным доля ЭПС+ колоний составила 20-30% в одной группе образцов и 10-15% в другой. Всего было учтено 9 колоний, из которых 5 проявили признаки ЭПС-продукции. Выявлены тёмно-синие, малиновые и чёрные колонии. По совокупности признаков (окраска, слизистая консистенция, растекающийся край, крупный размер) было отобрано 5 перспективных изолятов [9].

Анализ литературных данных показывает, что схожие подходы демонстрируют высокую эффективность. Так, в работе [6] из ризосферной почвы вокруг *Artemisia vulgaris* было выделено 73 изолята, а для штамма SH-8 (*Klebsiella aerogenes*) подтверждена способность к образованию ЭПС. Исследования других авторов показывают, что галофильные штаммы, например, *Halovivrio variabilis* UzAS3, выделенные из засоленных районов Каракалпакстана, способны давать выход ЭПС до 7,1–9,5 мг/мл, что значительно выше многих известных продуцентов [10].

Штамм *Bacillus atrophaeus* MO1, выделенный из засоленной почвы Приаралья, продуцирует гетерополисахарид, состоящий из ксилозы, глюкозы и галактозы, а также накапливает пролин (13,505 мг/г), что указывает на комплексный механизм адаптации к солевому стрессу [11]. Другой

перспективный штамм, *S. stutzeri* M205-2 из района озера Айдаркуль, значительно усиливал биосинтез ЭПС в условиях солевого стресса [10].

Обсуждение. Выбранный нами метод конго красного агара имеет ряд преимуществ для массового скрининга: он позволяет оценить большое количество колоний на одной чашке без экстракции и центрифугирования, что критически важно при работе с десятками почвенных образцов. Среда на основе LB с 5% сахарозы и инкубация 5 суток при 30-35 °C полностью совместимы с нашей схемой выделения бактерий из почвы.

Однако метод имеет ограничение: он дает только качественную оценку (в работе [6] ЭПС оценен как «+++» без числовых значений). Конго красный агар считается подтверждающим, но не количественным тестом [4]. Поэтому после скрининга необходимо выделить ЭПС осаждением этанолом с диализом и определить выход. Следует помнить, что фенол-серный метод неспецифичен и учитывает все углеводы, включая сахара среды [8]. Схема выделения (удаление белков трихлоруксусной кислотой, осаждение холодным этанолом, диализ, лиофилизация, FTIR и UHPLC) описана в работе [12].

Заключение. Проведенный биотехнологический скрининг подтвердил, что почвы засушливых регионов Узбекистана являются ценным источником ксеротолерантных бактерий-продуцентов экзополисахаридов. Методы выявления ЭПС делятся на быстрые качественные (мукоидные колонии, конго красный агар) и подтверждающие (микроскопия, выделение ЭПС, фенол-серный метод, HPLC, FTIR, NMR).

Для первичного скрининга почвенных изолятов обоснованно выбран конго красный агар по протоколу Shaffique и соавт. (2023) как простой, масштабируемый и совместимый с нашей схемой метод. Выявленные 5 перспективных изолятов обладают высоким биосинтетическим потенциалом. Дальнейшие исследования будут направлены на их молекулярную идентификацию (секвенирование гена 16S рРНК), количественное определение ЭПС и полевые испытания для создания микробных биопрепаратов нового поколения.

Список литературы:

1. Kondrasheva K.V., Yakimov M.M., La Cono V.L., Gavrilov S.N., Kalenov S.V., Tozhieva M.B., Davranov K.D. Xerotolerant microorganisms -

producers of exopolysaccharides and potential of their use in agricultural technologies // Microbiology. - 2025. - Vol. 94, No. 5. - P. 363-374.

2. Ramasamy K.P., Mahawar L. Coping with salt stress - interaction of halotolerant bacteria in crop plants: a mini review // Front. Microbiol. - 2023. - Vol. 14. - Art. 1077561.

3. Gantait A., Masih S.A., Maxton A., Sofo A., Addesso R. Rhizobacteria Exopolysaccharide: A Boon in Reclaiming Soil Fertility, Augmenting Plant Growth and Plant Stress Resilience // Environmental Microbiology Reports. - 2026. - Vol. 18, No. 2. - e70296.

4. Rühmann B., Schmid J., Sieber V. Methods to identify the unexplored diversity of microbial exopolysaccharides // Front. Microbiol. - 2015. - Vol. 6. - Art. 565.

5. Yadav M.K., Song J.H., Vasquez R., Lee J.S., Kim I.H., Kang D.-K. Methods for detection, extraction, purification, and characterization of exopolysaccharides of lactic acid bacteria - a systematic review // Foods. - 2024. - Vol. 13, No. 22. - Art. 3687.

6. Shaffique S., Imran M., Kang S.-M., Khan M.A., Asaf S., Kim W.-C., Lee I.-J. Seed bio-priming of wheat with a novel bacterial strain to modulate drought stress in Daegu, South Korea // Front. Plant Sci. - 2023. - Vol. 14. - Art. 1118941.

7. Freeman D.J., Falkiner F.R., Keane C.T. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci // J. Clin. Pathol. - 1989. - Vol. 42, No. 8. - P. 872-874.

8. DuBois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Anal. Chem. - 1956. - Vol. 28, No. 3. - P. 350-356.

9. Кудратуллаева Д.О., Тоштемирова М.Ж. Сравнение методов выявления экзополисахаридпродуцирующих бактерий и обоснование выбора метода скрининга для почвенных изолятов // Сборник конференции. - 2026. - С. 34-35.

10. Yakimov M.M., Marturano L., Kondrasheva K.V. et al. Diversity and Bioprospecting of Culturable Plant-Associated Bacteria from Saline Soils in the Aydarkul Lake Region, Uzbekistan // Eurasian Soil Science. - 2025. - Vol. 58, No. 13. - P. 1.

11. Jamalova O'.U., Qosimov D.I. Exopolysaccharide composition and proline production property of halotolerant Bacillus atrophaeus MO1 strain isolated from saline soil // Universal Journal. - 2026.

12. Kim I., Woo H., Chhetri G., Park S., Seo T. A novel exopolysaccharide-producing bacterium, Pseudescherichia liriopis sp. nov. isolated from Liriope platyphylla, enhances the growth of Daucus carota subsp. sativus under drought and salinity stress // Front. Plant Sci. - 2024. - Vol. 15. - Art. 1417639.