https://doi.org/10.5281/zenodo.22845230
UO‘T: 579.66:678.742.2

POLIETILEN PARCHALANISHINI TEZLASHTIRUVCHI BAKTERIAL SHTAMMLARNI (PSEUDOMONAS SPP., BACILLUS SPP.) MAHALLIY HUDUDLARDAN AJRATIB OLISH VA IDENTIFIKATSIYA QILISH

Zukhra A. Kadirova
Biotexnologiya va mikrobiologiya kafedrasi
(PhD)
ORCID:Zukhra A. Kadirova https://orcid.org/0009-0000-5611-5841

Abdug‘aniyeva Pokiza Yo’lchi qizi
Mirzo Ulug’bek nomidagi O’zbekiston Milliy universiteti
Biologiya va ekologiya fakulteti
Biotexnologiya kafedrasi magistranti
E-mail: pokiza.iphone12@gmail.com

Annotatsiya. *Maqolada polietilen (PE) chiqindilarini biologik parchalashda ishtirok etuvchi Pseudomonas spp. va Bacillus spp. avlodlariga mansub bakterial shtammlarni mahalliy ifloslangan hududlardan — chiqindi poligonlari, polimer korxonalari atrofidagi tuproqlar va oqova suvlardan — ajratib olish hamda identifikatsiya qilishning zamonaviy uslubiy yondashuvlari tahlil qilingan. Tahlil 2018–2025-yillarda nashr etilgan xalqaro tadqiqotlar hamda O‘zbekistonda o‘tkazilgan skrining natijalari asosida amalga oshirildi. Adabiyot ma’lumotlariga ko‘ra, mineral tuzli muhitda (MSM) polietilen yagona uglerod manbai sifatida qo‘llanilganda 30–112 kunlik inkubatsiya davomida shtammlar 1,14–52,0 % oralig‘ida vazn yo‘qotishni ta’minlagan. Eng yuqori ko‘rsatkichlar Bacillus siamensis (52,0 %; 60 kun), Bacillus cereus A5,a (35,72 %; 16 hafta) hamda UV nurlari bilan dastlabki ishlov berilgan polietilenda Pseudomonas balearica PDI-17 (19,90 %; 30 kun) shtammlarida qayd etilgan. UV bilan dastlabki ishlov berish parchalanish samaradorligini 4,2–9,3 barobarga oshirgan. Shtammlarni identifikatsiya qilishda Gram usulida bo‘yash va biokimyoviy testlar bilan bir qatorda MALDI-TOF MS, 16S rRNA geni ketma-ketligini aniqlash hamda alkB (alkan gidroksilaza) genini polimeraza zanjir reaksiyasi orqali aniqlash usullari yuqori samara berishi ko‘rsatilgan. Maqolada O‘zbekistonning quruq iqlimli va sho‘rlangan tuproqlari sharoiti uchun moslashtirilgan besh bosqichli uslubiy sxema taklif etilgan.*

Kalit so‘zlar: *polietilen, biodegradatsiya, Pseudomonas spp., Bacillus spp., mineral tuzli muhit, 16S rRNA, alkB geni, MALDI-TOF MS, bioremediatsiya, chiqindi poligoni.*

Аннотация. *В статье проанализированы современные методические подходы к выделению и идентификации бактериальных штаммов родов Pseudomonas spp. и Bacillus spp., участвующих в биологической деградации отходов полиэтилена (ПЭ), из местных загрязнённых территорий — свалок, почв вокруг полимерных предприятий и сточных вод. Анализ выполнен на основе международных исследований, опубликованных в 2018–2025 годах, а также*

результатов скрининга, проведённого в Узбекистане. Согласно литературным данным, при использовании полиэтилена в качестве единственного источника углерода в минеральной солевой среде (MSM) за 30–112 суток инкубации штаммы обеспечивали потерю массы в диапазоне 1,14–52,0 %. Наивысшие показатели зафиксированы у Bacillus siamensis (52,0 %; 60 суток), Bacillus cereus A5,a (35,72 %; 16 недель) и у Pseudomonas balearica PDI-17 (19,90 %; 30 суток) на полиэтилене, предварительно обработанном УФ-излучением. Предварительная УФ-обработка повышала эффективность деградации в 4,2–9,3 раза. Показано, что наряду с окраской по Граму и биохимическими тестами высокую результативность при идентификации штаммов обеспечивают MALDI-TOF MS, секвенирование гена 16S рРНК и выявление гена alkB (алкангидроксилазы) методом ПЦР. Предложена адаптированная пятиэтапная методическая схема для условий засушливых и засолённых почв Узбекистана.

Ключевые слова: *полиэтилен, биодеградация, Pseudomonas spp., Bacillus spp., минеральная солевая среда, 16S рРНК, ген alkB, MALDI-TOF MS, биоремедиация, свалка.*

Abstract. *The article analyses current methodological approaches to the isolation and identification of bacterial strains of the genera Pseudomonas spp. and Bacillus spp. involved in the biological degradation of polyethylene (PE) waste from locally contaminated sites — landfills, soils around polymer enterprises and wastewater. The analysis is based on international studies published between 2018 and 2025, together with screening results obtained in Uzbekistan. According to the literature, when polyethylene is supplied as the sole carbon source in mineral salt medium (MSM), strains achieved weight losses of 1.14–52.0 % over 30–112 days of incubation. The highest values were recorded for Bacillus siamensis (52.0 %; 60 days), Bacillus cereus A5,a (35.72 %; 16 weeks) and Pseudomonas balearica PDI-17 (19.90 %; 30 days) on UV-pretreated polyethylene. UV pretreatment increased degradation efficiency by a factor of 4.2–9.3. Alongside Gram staining and biochemical tests, MALDI-TOF MS, 16S rRNA gene sequencing and PCR detection of the alkB (alkane hydroxylase) gene were shown to be highly effective for strain identification. A five-stage methodological scheme adapted to the arid and saline soils of Uzbekistan is proposed.*

Keywords: *polyethylene, biodegradation, Pseudomonas spp., Bacillus spp., mineral salt medium, 16S rRNA, alkB gene, MALDI-TOF MS, bioremediation, landfill.*

KIRISH

Plastmassa jahon iqtisodiyotining ajralmas qismiga aylangan bo‘lib, 2024-yilda uning global ishlab chiqarish hajmi 430 million tonnaga yaqinlashdi va 2009-yildan buyon yiliga o‘rtacha 4,8 % ga o‘sib bormoqda [9]. Yevropada bu ko‘rsatkich 54,6 million tonnani tashkil etib, jahon ishlab chiqarishining 12 % iga to‘g‘ri keladi [10]. Ishlab chiqarilayotgan polimerlarning eng katta ulushi polietilenga (PE) — past zichlikdagi (LDPE) va yuqori zichlikdagi (HDPE) modifikatsiyalariga to‘g‘ri keladi. Polietilen yuqori molekulyar massaga, gidrofoblik xususiyatga va gidrolizga uchraydigan funksional guruhlarning yo‘qligiga ega bo‘lgan uglevodorod zanjiridan

tashkil topgani bois tabiiy sharoitda o‘n yillar davomida parchalanmasdan saqlanadi [1, 3].

O‘zbekiston Respublikasida yiliga taxminan 10,2 million tonna maishiy qattiq chiqindi hosil bo‘ladi va uning 10 % dan ortig‘i (taxminan 1,05 million tonna) plastik chiqindilar hissasiga to‘g‘ri keladi. Hozirda mamlakatda faoliyat yuritayotgan 116 ta qayta ishlash korxonasi yiliga atigi 130 ming tonnaga yaqin plastikni, ya’ni umumiy hajmning 6,6 % ini qayta ishlash quvvatiga ega [11]. Qolgan qism poligonlarga ko‘miladi yoki nazoratsiz to‘planadi. Bu holat tuproq unumdorligining pasayishi, mikroplastikning oziq-ovqat zanjiriga o‘tishi va yer osti suvlarining ifloslanishi kabi ekologik xavflarni keltirib chiqaradi.

Plastik chiqindilarni yo‘q qilishning an’anaviy usullari — yoqish va ko‘mish — mos ravishda atmosferaga zaharli gazlar chiqarilishi va uzoq muddatli ikkilamchi ifloslanish bilan bog‘liq [1]. Shu bois so‘nggi yillarda mikroorganizmlar yordamida polimerlarni biologik parchalash (biodegradatsiya) arzon, energiya talab qilmaydigan va ekologik xavfsiz muqobil sifatida keng o‘rganilmoqda [3, 4].

Polietilenning mikrobiologik parchalanishi ko‘p bosqichli jarayon hisoblanadi. Dastlab bakteriyalar polimer yuzasida bioplyonka hosil qiladi; abiotik omillar (UV nurlanish, yuqori harorat) ta’sirida polimer yuzasida karbonil, karboksil va gidroksil guruhlari shakllanib, gidrofoblik pasayadi va mikrobial hujum osonlashadi. Keyingi bosqichda alkan monooksigenaza (AlkB) fermenti uglevodorod zanjirining terminal metil guruhini gidroksillab, uni mos spirtga aylantiradi; hosil bo‘lgan spirt ketma-ket aldegid va yog‘ kislotasiga oksidlanib, hujayra ichidagi β-oksidlanish yo‘liga kiradi [8]. Bu jarayonda ishtirok etuvchi alkB1 va alkB2 genlari *Pseudomonas aeruginosa* genomida aniqlangan bo‘lib, ular polietilen parchalovchi shtammlarni tanlashda molekulyar marker sifatida qo‘llaniladi [1, 8]. Bundan tashqari, lakkaza, peroksidaza, proteaza va esteraza kabi hujayradan tashqari fermentlar ham polimer zanjirining uzilishida ishtirok etadi [1, 5].

Hozirgi kunga qadar polietilenni parchalash qobiliyatiga ega *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Brevibacillus*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus*, *Lysinibacillus* va *Enterobacter* avlodlariga mansub ko‘plab shtammlar tavsiflangan [1, 2, 6, 7]. Ular, asosan, uzoq vaqt davomida plastik chiqindilar to‘plangan tuproqlardan ajratib olinadi, chunki bunday hududlarda tabiiy tanlanish natijasida polimerdan uglerod manbai sifatida foydalana oladigan mikrobiotsenozlar shakllangan bo‘ladi [3, 4].

O‘zbekistonda ham bu yo‘nalishda dastlabki ishlar boshlangan: O‘zR FA Mikrobiologiya institutida *Pseudomonas putida*, *P. aeruginosa*, *Rahnella aquatilis*, *Enterobacter cloacae* va *E. ludwigii* shtammlarining LDPE, HDPE, PET va polivinilpirrolidonga nisbatan faolligi UB-spektrofotometrik usulda skrining qilingan; *E. cloacae* shtammi HDPE bilan inkubatsiyada nazoratga nisbatan 13,99 barobar ko‘p organik birikma hosil qilgani aniqlangan [6]. Shu bilan birga, mamlakatimizning quruq iqlimli, sho‘rlangan va yuqori haroratli tuproqlaridan aynan *Pseudomonas* va *Bacillus* avlodlariga mansub polietilen parchalovchi shtammlarni maqsadli ajratib olish va ularni molekulyar darajada identifikatsiya qilish bo‘yicha tizimli tadqiqotlar hali yetarli emas.

Mazkur maqolaning maqsadi — polietilen parchalanishini tezlashtiruvchi *Pseudomonas* spp. va *Bacillus* spp. shtammlarini mahalliy ifloslangan hududlardan ajratib olish, skrining qilish va identifikatsiya qilish bo‘yicha zamonaviy uslubiy yondashuvlarni tahlil qilish hamda O‘zbekiston sharoitida qo‘llash uchun asoslangan uslubiy sxemani ishlab chiqishdan iborat.

MATERIALLAR VA USLUBLAR.

Tadqiqot tahliliy-uslubiy xarakterga ega bo‘lib, unda 2018–2025-yillarda xalqaro retsenziyalanadigan jurnallarda chop etilgan oltita asosiy tajriba maqolasi hamda O‘zbekistonda o‘tkazilgan skrining natijalari birlamchi manba sifatida foydalanildi [1–7]. Manbalarni tanlashda quyidagi mezonlarga amal qilindi: (a) shtammlar tabiiy ifloslangan hududlardan (poligon, tuproq, oqova suv) ajratib olingan bo‘lishi; (b) polietilen (LDPE, HDPE yoki umumiy PE) parchalanishi miqdoriy usulda — gravimetrik tahlil yoki shaffof zona diametri orqali — baholangan bo‘lishi; (c) shtammlar kamida biokimyoviy yoki molekulyar usulda identifikatsiya qilingan bo‘lishi.

Solishtirma tahlil uchun har bir manbadan quyidagi ko‘rsatkichlar ajratib olindi: shtamm nomi, ajratib olingan hudud, o‘rganilgan polimer turi, inkubatsiya muddati va sharoiti, vazn yo‘qotish foizi hamda identifikatsiya usuli. Vazn yo‘qotish ko‘rsatkichi barcha manbalarda quyidagi umumiy formula asosida hisoblangan [1, 5]:

Vazn yo‘qotish (%) = [(Dastlabki vazn − Yakuniy vazn) / Dastlabki vazn] × 100

Ma’lumotlar solishtirilishi uchun turli polimer turlari (LDPE, HDPE, umumiy PE) va turli inkubatsiya muddatlari alohida belgilab ko‘rsatildi, chunki bu omillar natijaga sezilarli ta’sir qiladi va ularni e’tiborga olmasdan taqqoslash noto‘g‘ri xulosalarga olib kelishi mumkin. Grafik tahlil va diagrammalar Python 3.9 (Matplotlib 3.9) dasturiy muhitida tayyorlandi.

Shuningdek, tahlil qilingan manbalar asosida O‘zbekiston sharoiti uchun moslashtirilgan besh bosqichli uslubiy sxema — namuna olish va boyitish, shtammlarni ajratib olish, skrining, identifikatsiya hamda optimallashtirish bosqichlari — shakllantirildi va quyida bayon etildi.

NATIJALAR VA MUNOZARALAR.

1. Namuna olish hududlari va boyitish bosqichi.

Tahlil qilingan barcha manbalarda samarali shtammlar uzoq muddat plastik chiqindilar ta’sirida bo‘lgan hududlardan ajratib olingan: Adama (Efiopiya) chiqindi poligonidan [1], Owerri (Nigeriya) shahar poligonlaridan [2], Morogoro (Tanzaniya) qishloq xo‘jaligi tuproqlaridan [3], Lagos (Nigeriya) Alimosho tumani chiqindixonalaridan [4] va Dandora (Keniya) poligonidan [7]. Bu qonuniyat mahalliy sharoitda namuna olish nuqtalarini tanlashda muhim mezon bo‘lib xizmat qiladi: eng istiqbolli obyektlar sifatida polietilen chiqindilari ko‘milgan tuproq qatlamlari, chiqindi poligonlari, polimer qayta ishlash korxonalari atrofidagi tuproq hamda oqova suvlar tavsiya etiladi.

Boyitish (enrichment) bosqichida tuproq namunasi UV nurlari bilan dastlabki ishlov berilgan polietilen plyonka bo‘laklari bilan birga mineral tuzli muhitga (MSM) joylashtiriladi. Efiopiya tadqiqotida uglerodsiz bazal muhit tarkibi quyidagicha bo‘lgan (g/l): KH_2PO_4 — 0,7; K_2HPO_4 — 0,7; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,7; NH_4NO_3 — 1,0 va

mikroelementlar; namunalar 37 °C da 14 sutkadan ortiq inkubatsiya qilingan [1]. Bunday sharoitda polietilen yagona uglerod manbai bo‘lgani sababli faqat undan foydalanishga qodir mikroorganizmlargina ko‘payadi, ya’ni tanlanish jarayoni avtomatik ravishda amalga oshadi.

2. Shtammlarni ajratib olish va dastlabki skrining.

Boyitilgan muhitdan olingan namunalar ozuqaviy agarga (Nutrient Agar) yoki tanlab olinadigan muhitlarga ekiladi. *Pseudomonas* avlodini ajratib olishda King A va King B muhitlari, *Bacillus* avlodini ajratib olishda esa namunani 80 °C da 10 daqiqa termik ishlovdan o‘tkazish (vegetativ hujayralarni yo‘qotib, endosporalarni saqlab qolish) usuli samarali hisoblanadi. Turli morfologiyaga ega koloniyalar takroriy ekish orqali tozalanib, sof kulturalar olinadi [1, 4].

Dastlabki skrining ikki usulda amalga oshiriladi. Birinchisi — maydalangan polietilen qo‘shilgan mineral agarda koloniya atrofida shaffof zona (clear zone) hosil bo‘lishini kuzatish. Tanzaniya tadqiqotida bakterial izolyatlar 17 kunda 19,3–47,5 mm, aktinomitsetlar 25,9–32,2 mm, zamburug‘lar esa 13 kunda 30,0–66,3 mm diametrli zonalar hosil qilgan [3]. Ikkinchisi — suyuq muhitda optik zichlik (OD_{600}) o‘sishini kuzatish: Nigeriya tadqiqotida *B. siamensis* uchun OD_{600} 60 kun ichida 0,12 dan 0,84 gacha, *B. pumilus* uchun 0,11 dan 0,67 gacha ortgan, nazorat muhitida esa o‘zgarmagan (0,11) [2].

3. Polietilenni parchalash samaradorligi.

Tahlil qilingan manbalarda qayd etilgan asosiy natijalar 1-jadvalda umumlashtirilgan.

1-jadval

Mahalliy ifloslangan hududlardan ajratib olingan shtammlarning polietilenni parchalash ko‘rsatkichlari (adabiyot ma’lumotlari umumlashtirilgan)

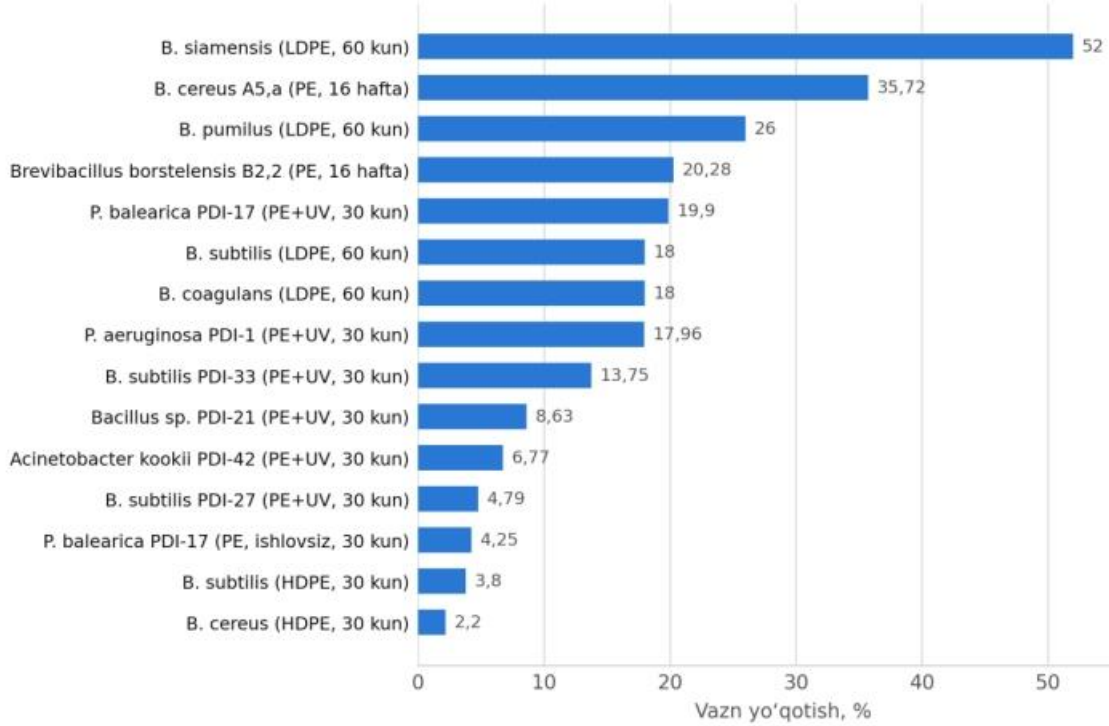
Shtamm	Ajratib olingan hudud	Polimer	Muddat	Vazn yo‘qotish, %	Identifikatsiya usuli	Manba
Bacillus siamensis	Owerri, Nigeriya	LDPE	60 kun	52,0	16S rDNK	[2]
Bacillus pumilus	Owerri, Nigeriya	LDPE	60 kun	26,0	16S rDNK	[2]
Bacillus coagulans	Owerri, Nigeriya	LDPE	60 kun	18,0	16S rDNK	[2]
Bacillus subtilis	Owerri, Nigeriya	LDPE	60 kun	18,0	16S rDNK	[2]
Bacillus cereus A5,a	Dandora, Keniya	PE	16 hafta	35,72 ± 4,01	16S rRNA	[7]
Brevibacillus borstelensis B2,2	Dandora, Keniya	PE	16 hafta	20,28 ± 2,30	16S rRNA	[7]
Pseudomonas balearica PDI-17	Adama, Efiopiya	PE + UV	30 kun	19,90	MALDI-TOF MS, 16S rRNA, alkB	[1]
Pseudomonas aeruginosa PDI-1	Adama, Efiopiya	PE + UV	30 kun	17,96	MALDI-TOF MS, 16S rRNA, alkB	[1]
Bacillus subtilis PDI-33	Adama, Efiopiya	PE + UV	30 kun	13,75	MALDI-TOF MS	[1]
Bacillus sp. PDI-21	Adama, Efiopiya	PE + UV	30 kun	8,63	16S rRNA	[1]

Shtamm	Ajratib olingan hudud	Polimer	Muddat	Vazn yo‘qotish, %	Identifikatsiya usuli	Manba
Acinetobacter kookii PDI-42	Adama, Efiopiya	PE + UV	30 kun	6,77	MALDI-TOF MS	[1]
Bacillus subtilis PDI-27	Adama, Efiopiya	PE + UV	30 kun	4,79	MALDI-TOF MS	[1]
Pseudomonas balearica PDI-17	Adama, Efiopiya	PE (ishlovsiz)	30 kun	4,25	MALDI-TOF MS, 16S rRNA	[1]
Bacillus subtilis	Kafrelsheikh, Misr	HDPE	30 kun	3,80	Biokimyoviy, SDS-PAGE	[5]
Bacillus cereus	Kafrelsheikh, Misr	HDPE	30 kun	2,20	Biokimyoviy, SDS-PAGE	[5]
Bacillus sp., Micrococcus sp.	Lagos, Nigeriya	PE / PS	6 hafta	25,0–31,2	Biokimyoviy testlar	[4]

Izoh: PE + UV — polietilenga tajribadan oldin ultrabinafsha nurlar bilan ishlov berilgan variant. PS — polistirol. Ko‘rsatkichlar tegishli manbalardagi gravimetrik tahlil natijalari asosida keltirilgan.

1-jadval ma’lumotlaridan ko‘rinib turibdiki, polietilenning bakterial parchalanish darajasi juda keng oralig‘da — 2,20 % dan 52,0 % gacha — o‘zgaradi. Bu farq uch asosiy omil bilan izohlanadi: polimer turi (LDPE HDPE ga qaraganda ancha oson parchalanadi, chunki uning kristalliligi past va tarmoqlanish darajasi yuqori), inkubatsiya muddati hamda polimerga dastlabki ishlov berilgan-berilmagani. Masalan, *B. subtilis* shtammi LDPE bilan 60 kun inkubatsiyada 18,0 % vazn yo‘qotishni ta’minlagan bo‘lsa [2], HDPE bilan 30 kunlik tajribada bu ko‘rsatkich atigi 3,80 % ni tashkil etgan [5].

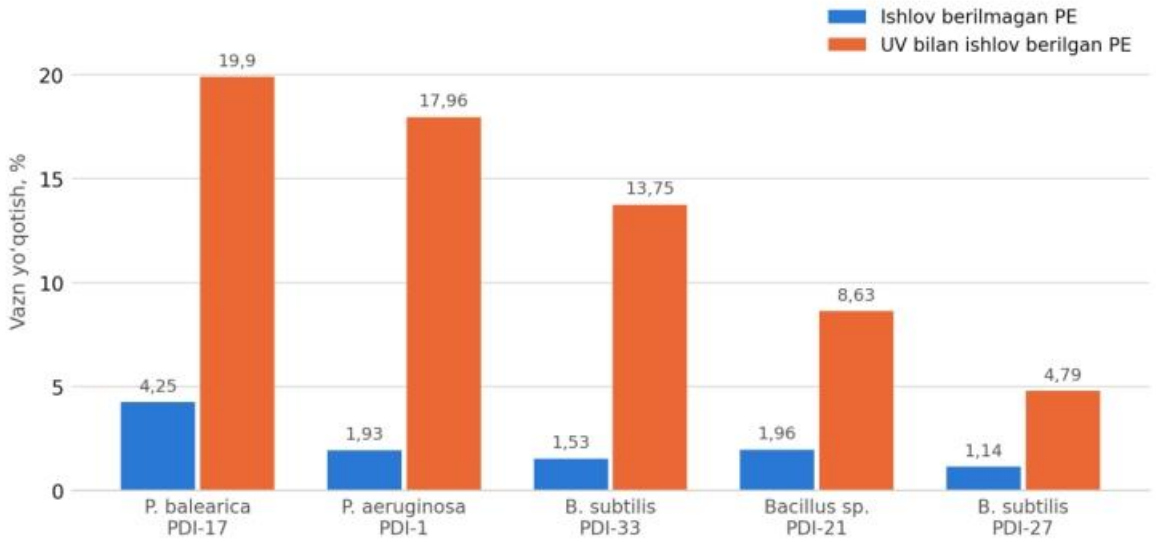
Umumiy natijalarning taqqoslama tahlili 1-rasmda keltirilgan.



1-rasm. Adabiyot manbalarida qayd etilgan Pseudomonas va Bacillus shtammlarining polietilenni parchalash samaradorligi (vazn yo‘qotish, %) [1, 2, 5, 7].

4. Dastlabki ishlov berishning parchalanish samaradorligiga ta’siri.

Polietilenning biologik parchalanishini cheklovchi asosiy omil — uning yuzasida fermentlar hujum qila oladigan qutbli guruhlarning yo‘qligidir. UV nurlari (365 nm) yoki termik ishlov (70 °C) ta’sirida polimer yuzasida karbonil guruhlari hosil bo‘lib, gidrofoblik pasayadi va mikrobial adgeziya kuchayadi [1]. Efiopiya tadqiqotida bu samaraning miqdoriy bahosi berilgan: bir oylik inkubatsiyada UV bilan ishlov berilmagan polietilenda vazn yo‘qotish 1,14–4,25 % ni tashkil etgan bo‘lsa, UV bilan ishlov berilganda bu ko‘rsatkich 4,79–19,90 % gacha ko‘tarilgan (2-rasm) [1].



2-rasm. Polietilenga UV nurlari bilan dastlabki ishlov berishning bakterial parchalanish samaradorligiga ta’siri (Adama, Efiopiya shtammlari misolida) [1].

Hisob-kitoblarga ko‘ra, UV bilan ishlov berish *P. aeruginosa* PDI-1 shtammida samaradorlikni 9,3 barobarga, *B. subtilis* PDI-33 shtammida 9,0 barobarga, *Bacillus* sp. PDI-21 shtammida 4,4 barobarga va *P. balearica* PDI-17 shtammida 4,7 barobarga oshirgan. Bu natija mahalliy sharoitda ishlab chiqiladigan bioremediatsiya texnologiyalarida polimerga fotooksidlovchi dastlabki ishlov berish bosqichini majburiy element sifatida kiritish zarurligini ko‘rsatadi. O‘zbekistonning quyoshli kunlar soni yuqori bo‘lgan iqlim sharoiti bu bosqichni tabiiy insolyatsiya hisobiga arzon amalga oshirish imkonini beradi.

5. Shtammlarni identifikatsiya qilish usullari.

Tahlil qilingan manbalarda identifikatsiya bosqichi ketma-ket uch darajada olib borilgan. Birinchi daraja — morfologik va biokimyoviy tavsiflash: Gram usulida bo‘yash, koloniya morfologiyasini o‘rganish, katalaza, oksidaza, indol, sitrat, urease testlari hamda uglevodlarni fermentlash xususiyatlari [1, 4]. Ikkinchi daraja — MALDI-TOF mass-spektrometriya: bunda hujayra oqsillarining mass-spektri ma’lumotlar bazasi bilan solishtiriladi; ≥ 2,0 ball tur darajasidagi ishonchli identifikatsiya sifatida qabul qilinadi [1]. Uchinchi daraja — molekulyar identifikatsiya: 16S rRNA genini universal praymerlar (8F — AGAGTTTGATCCTGGCTCAG va 1492R — TACGGTTACCTTGTTACGACTT) yordamida amplifikatsiya qilish, sekvenirlash va BLAST algoritmi orqali ma’lumotlar bazasidagi ketma-ketliklar bilan taqqoslash [1, 2, 7].

Alohida ahamiyatga ega bo‘lgan yondashuv — funksional genlarni aniqlash. Efiopiya tadqiqotida alkB (alkan gidroksilaza) geniga PZR o‘tkazilib, *P. aeruginosa* PDI-1, *P. aeruginosa* PDI-2, *P. balearica* PDI-17, PDI-11 va *P. balearica* PDI-39 shtammlari ushbu gen bo‘yicha musbat natija bergani aniqlangan; *B. cereus* PDI-8, *B. subtilis* PDI-27 va *Acinetobacter kookii* PDI-42 shtammlarida esa gen aniqlanmagan [1]. Muhim jihati shundaki, alkB geni bo‘yicha musbat bo‘lgan shtammlar aynan eng yuqori vazn yo‘qotish ko‘rsatkichlarini namoyon etgan. Bu holat alkB genini polietilen parchalovchi shtammlarni tez tanlab olish uchun ishonchli molekulyar marker sifatida qo‘llash mumkinligini ko‘rsatadi.

Amaliy ishda *Pseudomonas* va *Bacillus* avlodlarini dastlabki differensiatsiya qilish uchun 2-jadvalda keltirilgan test majmuasidan foydalanish tavsiya etiladi.

2-jadval

Pseudomonas spp. va Bacillus spp. avlodlarini differensiatsiya qilishning asosiy morfologik, biokimyoviy va molekulyar mezonlari

Mezon / test	*Pseudomonas spp.*	*Bacillus spp.*
Gram usulida bo‘yash	Manfiy (–), to‘g‘ri tayoqcha	Musbat (+), yirik tayoqcha
Endospora hosil qilish	Yo‘q	Bor (markaziy yoki terminal)
Katalaza	Musbat (+)	Musbat (+)
Oksidaza	Musbat (+), aksariyat turlarda	Odatda manfiy (–), o‘zgaruvchan
Harakatchanlik	Qutbiy xivchin(lar) hisobiga	Peritrix xivchinlar hisobiga
Pigment hosil qilish	Flüoressent pigmentlar (pioverdin, piotsianin)	Odatda pigmentsiz
Glyukozaga munosabat (OF test)	Oksidlovchi	Fermentlovchi yoki oksidlovchi
Tanlab olish usuli	King A va King B muhitlari	Namunani 80 °C da 10 daqiqa termik ishlash
Optimal o‘sish harorati	25–37 °C	30–45 °C (ayrim turlar termotolerant)
Optimal pH (PE muhitida)	7,2 (5,5–8,5 oralig‘ida o‘sadi)	7,2 (5,5–8,5 oralig‘ida o‘sadi)
Kalit molekulyar marker	alkB1, alkB2 genlari; 16S rRNA	16S rRNA; lakkaza va peroksidaza faolligi
Hujayradan tashqari fermentlar	Proteaza, lipaza	Proteaza, amilaza, esteraza

Izoh: jadval [1, 4] manbalaridagi tajriba ma’lumotlari va umumiy bakteriologiya uslubiyoti asosida tuzilgan.

6. Optimal sharoitlar va konsorsiumdan foydalanish.

Parchalanish samaradorligini oshirish uchun kultivatsiya sharoitlarini optimallashtirish talab etiladi. Efiopiya tadqiqotida uchta yetakchi shtamm uchun pH (5,5; 7,2; 8,5), harorat (25; 30; 37 °C) va polietilen konsentratsiyasi (0,05; 0,1; 0,5 % w/v) bo‘yicha optimallashtirish o‘tkazilgan. Eng yuqori hujayra quruq massasi va optik zichlik ko‘rsatkichlari pH 7,2 da qayd etilgan; *P. balearica* PDI-17 shtammi 0,5 % polietilen konsentratsiyasida eng yuqori OD_{600} (0,208) ni namoyon etgan [1]. Sho‘rlangan tuproqlardan ajratib olinadigan shtammlar uchun bu parametrlar qatoriga NaCl konsentratsiyasiga chidamlilik testini qo‘shish maqsadga muvofiq, chunki O‘zbekiston tuproqlarining sezilarli qismi turli darajada sho‘rlangan.

Yakka shtammlar o‘rniga konsorsiumdan foydalanish istiqbolli yo‘nalish hisoblanadi: turli fermentativ tizimga ega *Pseudomonas* va *Bacillus* shtammlarini birgalikda qo‘llash polimer zanjirining ketma-ket bosqichlarda parchalanishini ta’minlaydi. Zamburug‘larning ham yuqori faolligi qayd etilgan: Keniya tadqiqotida *Aspergillus oryzae* A5,1 shtammi 16 haftada 36,4 ± 5,53 % vazn yo‘qotishga erishgan va umuman zamburug‘lar bakteriyalarga nisbatan samaraliroq parchalovchi ekani ta’kidlangan [7]. Tanzaniya tadqiqotida esa *Phoma* sp. va *Aspergillus* sp. mos ravishda 66,3 mm va 61,1 mm shaffof zona hosil qilgan [3]. Shu bois kelgusi tadqiqotlarda bakterial-zamburug‘li aralash konsorsiumlarni sinash tavsiya etiladi.

7. O‘zbekiston sharoiti uchun taklif etilayotgan uslubiy sxema.

Tahlil natijalari asosida quyidagi besh bosqichli sxema taklif etiladi:

1-bosqich — namuna olish va boyitish. Toshkent, Samarqand, Buxoro va Farg‘ona vodiysidagi chiqindi poligonlari, polimer qayta ishlash korxonalari atrofidagi tuproqlar hamda oqova suvlardan 0–20 sm chuqurlikdan namunalar olinadi. Namunalar UV bilan ishlov berilgan polietilen plyonka bo‘laklari solingan MSM muhitiga joylashtirilib, 37 °C da 100–150 rpm tezlikda 30–60 kun inkubatsiya qilinadi.

2-bosqich — ajratib olish. Boyitilgan muhitdan Nutrient agar, King B (Pseudomonas uchun) muhitlariga ekiladi; Bacillus uchun namuna 80 °C da 10 daqiqa termik ishlovdan o‘tkaziladi. Koloniyalar takroriy ekish orqali tozalanib, sof kulturalar olinadi.

3-bosqich — skrining. Sof kulturalar maydalangan polietilen qo‘shilgan mineral agarda shaffof zona hosil qilishi hamda suyuq MSM muhitida OD600 o‘sishi bo‘yicha baholanadi. Eng faol 5–10 ta izolyat keyingi bosqichga tanlab olinadi.

4-bosqich — identifikatsiya. Morfologik va biokimyoviy tavsiflash (2-jadval), so‘ngra 16S rRNA genini sekvenirlash va BLAST tahlili; imkoniyat bo‘lsa MALDI-TOF MS. alkB geniga PZR o‘tkazish orqali funksional potensial tasdiqlanadi.

5-bosqich — samaradorlikni baholash va optimallashtirish. 30, 60 va 90 kunlik gravimetrik tahlil; FT-IR spektroskopiya orqali yangi funksional guruhlarni aniqlash; SEM orqali polimer yuzasidagi yoriq va g‘ovaklarni kuzatish. pH, harorat, polimer konsentratsiyasi va NaCl darajasi bo‘yicha optimallashtirish o‘tkaziladi.

Ushbu sxemaning ustunligi shundaki, u nisbatan arzon va standart mikrobiologik laboratoriya imkoniyatlari doirasida bajariladigan bosqichlardan (boyitish, skrining, gravimetriya) boshlanib, faqat eng istiqbolli izolyatlar uchun qimmat instrumental usullarga (MALDI-TOF MS, sekvenirlash, SEM, FT-IR) murojaat qilishni nazarda tutadi. Bu esa cheklangan resurslar sharoitida tadqiqot samaradorligini oshiradi.

XULOSA

1. Tahlil qilingan manbalar polietilenni parchalash qobiliyatiga ega shtammlar, asosan, uzoq muddat plastik chiqindilar ta’sirida bo‘lgan hududlardan — chiqindi poligonlari, polimer korxonalari atrofidagi tuproqlar va oqova suvlardan ajratib olinishini ko‘rsatadi. Mineral tuzli muhitda polietilenni yagona uglerod manbai sifatida qo‘llash tanlab olishning eng samarali usuli hisoblanadi.

2. Adabiyot ma’lumotlariga ko‘ra, Pseudomonas va Bacillus avlodlariga mansub shtammlar 30–112 kunlik inkubatsiyada 1,14–52,0 % oralig‘ida vazn yo‘qotishni ta’minlaydi. Eng yuqori ko‘rsatkichlar B. siamensis (52,0 %; LDPE, 60 kun), B. cereus

A5,a (35,72 %; PE, 16 hafta) va P. balearica PDI-17 (19,90 %; PE + UV, 30 kun) shtammlarida qayd etilgan.

3. Polietilenga UV nurlari bilan dastlabki ishlov berish parchalanish samaradorligini 4,2–9,3 barobarga oshiradi. Shu sababli bioremediatsiya texnologiyalarida fotooksidlovchi dastlabki ishlov berish bosqichi majburiy element sifatida qaralishi lozim.

4. Shtammlarni identifikatsiya qilishda uch bosqichli yondashuv — morfologik-biokimyoviy tavsiflash, MALDI-TOF MS va 16S rRNA genini sekvenirlash — eng ishonchli natija beradi. alkB (alkan gidroksilaza) genining mavjudligi shtammning yuqori parchalash faolligi bilan bog‘liq bo‘lib, uni tez skrining uchun molekulyar marker sifatida qo‘llash mumkin.

5. O‘zbekiston sharoitida yiliga 1 million tonnadan ortiq plastik chiqindi hosil bo‘lishi va qayta ishlash quvvatining atigi 6,6 % ni tashkil etishini hisobga olganda, mahalliy tuproqlardan sho‘rlanish va yuqori haroratga chidamli polietilen parchalovchi shtammlarni ajratib olish hamda ular asosida konsorsium yaratish dolzarb ilmiy-amaliy vazifa hisoblanadi. Taklif etilgan besh bosqichli uslubiy sxema bu ishlarni tizimli tashkil etish uchun asos bo‘lib xizmat qilishi mumkin.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Nedi E.G., Ebu S.M., Somboo M. Identification and molecular characterization of polyethylene degrading bacteria from garbage dump sites in Adama, Ethiopia // Environmental Technology & Innovation. — 2024. — Vol. 33. — Art. 103441. DOI: 10.1016/j.eti.2023.103441

2. Uwakwe F.E., Ezejiofor T.I.N., Anyalogbu E.A.A., Ogbulie T.E. The biodegradation of low-density polyethylene by Bacillus species // EQA — International Journal of Environmental Quality. — 2025. — Vol. 67. — P. 26–35. DOI: 10.6092/issn.2281-4485/20474

3. Nakei M.D., Misinzo G., Tindwa H., Semu E. Degradation of polyethylene plastic bags and bottles using microorganisms isolated from soils of Morogoro, Tanzania // Frontiers in Microbiology. — 2022. — Vol. 13. — Art. 1077588. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1077588

4. Emmanuel-Akerele H.A., Akinyemi P.O., Igbogbo-Ekpunobi O.E. Isolation and identification of plastic degrading bacteria from dumpsites Lagos // Advances in Environmental Technology. — 2022. — Vol. 8, № 1. — P. 59–71. DOI: 10.22104/AET.2022.5268.1428

5. Nawar A.M., Mostafa A.M., El-Kassas S., Rashwan A.G., Abdelnasser E., Assas M. Protein-mediated microbial biodegradation of high-density polyethylene: A comparative study of Bacillus cereus and Bacillus subtilis // Open Veterinary Journal. — 2025. — Vol. 15, № 11. — P. 5616–5626. DOI: 10.5455/OVJ.2025.v15.i11.18

6. Алиев З.З., Назиров М.М., Халилов И.М., Сафаров Х.Ш., Бобоқулов М.Ш., Халилова Ф.М. Турли хил полиэтилен турларига микроорганизмларнинг таъсирини скрининг қилиш // “Маънавий баркамол ёшлар янги Ўзбекистон бунёдкори” халқаро илмий-амалий анжуман. — Тошкент, 2024. — Б. 618–624. DOI: 10.5281/zenodo.11224878

7. Muhonja C.N., Makonde H., Magoma G., Imbuga M. Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya // PLoS ONE. — 2018. — Vol. 13, № 7. — Art. e0198446. DOI: 10.1371/journal.pone.0198446

8. Guo X., Zhang J., Han L., Lee J., Williams S.C., Forsberg A., Xu Y., Austin R.N., Feng L. Structure and mechanism of the alkane-oxidizing enzyme AlkB // Nature Communications. — 2023. — Vol. 14. — Art. 2180. DOI: 10.1038/s41467-023-37869-z

9. Statista. Global plastics industry — statistics & facts. — 2025. URL: https://www.statista.com/topics/5266/plastics-industry/

10. Plastics Europe. Plastics — the Fast Facts 2025. — Brussels, 2025. URL: https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2025/

11. O‘zbekiston Respublikasi Ekologiya, atrof-muhitni muhofaza qilish va iqlim o‘zgarishi vazirligi ma’lumotlari. Over 10 % of Uzbekistan’s waste is plastic, but recycling capacity remains insufficient. — Kun.uz, 03.02.2025. URL: https://kun.uz/en/news/2025/02/03/over-10-of-uzbekistans-waste-is-plastic-but-recycling-capacity-remains-insufficient