

ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ

Хужамшукуров Н. А.

Ташкентский химико-технологический институт, Узбекистан

Мустафакулова Ф. А.

Наманганский инженерно-технологический институт, Узбекистан

Аннотация:

В статье «Производства микробиологических препаратов на основе бактерий» выяснено, как нужно культивировать бактерий. Исследовано влияние лимитирующих концентраций глюкозы, дрожжевого экстракта, фосфора и магния на рост, спорообразование, биосинтез белковых кристаллов и физиолого-биохимические свойства культуры *Bacillus thuringiensis*.

Ключевые слова: микробиология, биотехнология, бактерия, питательная среда, физиология, инсектициды.

Annotation:

In the article "Production of microbiological preparations based on bacteria" it was found out how bacteria should be cultivated. The effect of limiting concentrations of glucose, yeast extract, phosphorus and magnesium on growth, sporulation, biosynthesis of protein crystals, and physiological and biochemical properties of *Bacillus thuringiensis* culture was studied.

Key words: microbiology, biotechnology, bacteria, nutrient medium, physiology, insecticides.

Наибольшее практическое значение из применяемых в настоящее время биологических средств защиты растений имеют бактериальные инсектицидные препараты, получаемые на основе культур бактерий *Bacillus thuringiensis*.

Обычно культивирование этих микроорганизмов проводится на сложных средах неопределенного состава, на которых оно хорошо растет, но значительно затруднены исследования физиологии питания, а это в свою очередь не позволяет в полной мере оптимизировать процесс получения инсектицидных препаратов.

Из данных литературы можно заключить, что потребности в условиях питания *Bacillus thuringiensis* изучены недостаточно. В то же время известно, что причиной спорообразования является начало голодания культуры, но нет данных о том, голодание по каким именно элементам питания имеет основное значение. Между тем

этот вопрос представляет большой интерес с точки зрения проведения управляемого культивирования бактерий, увеличения выхода белковых кристаллов – основного фактора вирулентности *Bacillus thuringiensis* для насекомых, так как именно голодание приостанавливает вегетативный рост и приводит к образованию спор и кристаллов.

В связи с этим представлялось целесообразным изучить влияние лимитирующих концентраций глюкозы, дрожжевого экстракта, фосфора и магния на рост, спорообразование, биосинтез белковых кристаллов и физиолого-биохимические свойства культуры *Bacillus thuringiensis*. При культивировании *Bac.thuringiensis* var.*thuringiensis* M_{1th} на полной среде без заданной лимитации вес цикл развития культуры длился около 48 ч. Споры прорастали в течение 4 ч, а экспоненциальная фаза длилась 18-20 ч. Максимальная скорость роста достигала 0,58 ч⁻¹. Развитие культуры на примененной среде служило исходным для последующих исследований влияния лимитирования различными компонентами среды роста и развития культуры.

Подробны лимитирующие концентрации глюкозы (0,5 г/л) и дрожжевого экстракта (0,2 г/л), обеспечивающие получение урожая клеток в два раза ниже, чем в контроле, что свидетельствует о лимитации роста только одним фактором. Чтобы получить лимитацию роста фосфором, калием или магнием, соли указанных элементов полностью исключались из среды. Тем не менее в среде без внесения солей фосфора или магния содержание этих элементов составляло 0,014 и 0,0025 мг/мл соответственно, за счет их наличия в дрожжевом экстракте. Данные концентрации фосфора или магния обеспечивали лимитированный этими факторами роста бактерий (табл. 1).

Определение содержания ряда органических кислот в культуральной жидкости в динамике роста культуры (табл.2) показало, что изменения pH среды происходят не за счет потребления физиологически кислой соли (NH₄)₂SO₄. Следовательно, можно заключить, что роста и развитие *Bacillus thuringiensis* зависят от типа лимитации. Эти различия проявляются в длительности фазы прорастания спор, продолжительности экспоненциальной фазы и всего цикла развития культуры. Однако споро- и кристаллообразование протекает при всех исследованных лимитациях.

Влияние ингредиентов среды на максимальную скорость роста, споро-, кристаллообразование и инсектицидную активность *Bacillus thuringiensis*

| Лимити-рующий фактор | μ, ч ⁻¹ | Биомасса в стационарную фазу роста, г/л | Титр кристаллов в конце ферментации, кристаллов ×10 ⁸ /мл | Заспорованность, культуры, % | Жизнеспособность спор, % | Термоустойчивость жизнеспособных спор, % | ЛК ₅₀ | | Диссоциация культуры, % | |
|----------------------|--------------------|---|--|------------------------------|--------------------------|--|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------|---------|
| | | | | | | | По ГОСТ ×10 ⁶ | По титру кристаллов ×10 ⁶ | R-форма | S-форма |
| Глюкоза | 0,52±0,02 | 0,41±0,02 | 1,2±0,2 | 52±4 | 73±9 | 88±2 | 27±6,2 | 27±5,4 | 99±1 | 1±1 |
| Дрожжевой экстракт | 0,48±0,01 | 0,39±0,02 | 1,9±0,2 | 76±10 | 31±4 | 86±6 | 7,0±3,1 | 30±7,4 | 93±7 | 7±7 |
| Фосфор | 0,91±0,03 | 0,66±0,01 | 2,0±0,2 | 50±2 | 23±2 | 49±4 | 3,2±1,5 | 28±3,9 | 95±3 | 5±3 |
| Магний | 0,55±0,02 | 0,64±0,01 | 1,4±0,1 | 42±5 | 25±3 | 66±3 | 4,0±2,2 | 21±6,5 | 93±5 | 7±5 |
| Калий | - | - | 1,0±0,4 | 46±3 | 40±5 | 83±8 | - | - | 97±3 | 3±3 |

Примечание. Знак «—» - не определяли.

Содержание продуктов метаболизма культуры *Bacillus thuringiensis* в среде культивирования

| Лимитирующий фактор | Экспоненциальная фаза роста | Кетокислоты, мкг/мл | | | Летучие кислоты, мг/мл | Молочная кислота, мкг/мл |
|---------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------------|-----------------|------------------------|--------------------------|
| | | α -кетоглутаровая | Щевелевоуксусная и глиоксиловая | Пировиноградная | | |
| Глюкоза | Начало | 0 | 0,22±0,11 | 0,50±0,24 | 0 | 0 |
| | Середина | 0 | 0,60±0,19 | 0,74±0,14 | 0 | 0 |
| | Конец | 0 | 0,58±0,04 | 0,38±0,16 | 0 | 0 |
| Дрожжевой экстракт | Начало | 0 | 0,15±0,15 | 0,07±0,06 | 0 | 0 |
| | Середина | 0 | 0,21±0,05 | 0,16±0,02 | 0 | 0 |
| | Конец | 0 | 0,11±0,03 | 0,08±0,07 | 0 | 0 |
| Фосфор | Начало | 0,35±0,08 | 0,53±0,03 | 0,39±0,06 | 0 | 0 |
| | Середина | 0,36±0,03 | 0,83±0,19 | 1,01±0,41 | 0,33±0,06 | 0,55±0,25 |
| | Конец | 0,34±0,04 | 0,75±0,30 | 0,35±0,05 | 0,40±0,02 | 0,69±0,10 |
| Магний | Начало | 0,20±0,07 | 0,10±0,03 | 0,40±0,08 | 0,17±0,03 | 0,09±0,01 |
| | Середина | 0,35±0,08 | 0,14±0,01 | 0,60±0,13 | 0,21±0,02 | 0,13±0,03 |
| | Конец | 0,39±0,04 | 0,18±0,03 | 0,64±0,09 | 0,31±0,09 | 0,17±0,02 |

Литературы

1. Хужамшукуров Н.А. Влияния биопрепарата Antibas Uz на энтомофаги хлопкового агробиоценоза. Журнал "Защита и карантин растений" (Россия). 2016 (в печати).
2. Хужамшукуров Н.А. Влияния биопрепарата Antibas Uz на *Helicoverpa armigera* Нв. ВЕСТНИК НГУ (Вестник Новосибирский государственный университет), Россия (в печати).
3. Мустафакулова Ф. А., Мирзаабдуллаева С. Н., Мирзаабдуллаева М. Н. BACILLUS THURINGIENSIS БАКТЕРИЯСИ АСОСИДАГИ БИОПРЕПАРАТЛАРНИНГ САМАРАДОРЛИГИ //BARQARORLIK VA YETAKSHI TADQIQOTLAR ONLAYN ILMIY JURNALI. – 2022. – С. 674-677.
4. Мустафакулова Ф. А. и др. СОВРЕМЕННАЯ BIOTEХНОЛОГИЯ РЕШИТ ПРОБЛЕМЫ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА //СОВРЕМЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ТЕХНИЧЕСКИХ И ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК. – 2017. – С. 81-83.
5. Мустафакулова, Ф. А., С. Н. Юлдашева, and А. Мухаммадзокиров. "ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ." ПРОБЛЕМЫ,

- ПЕРСПЕКТИВЫ И НАПРАВЛЕНИЯ ИННОВАЦИОННОГО РАЗВИТИЯ НАУКИ. 2018.
6. Мустафакулова, Ф. А., & Расулова, М. Б. (2019). ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ. НАУЧНЫЙ ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ «АКАДЕМИЧЕСКАЯ ПУБЛИЦИСТИКА», 43.
 7. Камбарова М. Х., Мустафакулова Ф. А. РАСПРОСТРАНЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ В ПОЧВЕ DISTRIBUTION OF MICROORGANISMS IN SOIL //ББК 65.2 С56. – С. 114.
 8. Алимжанов К. И., Мустафакулова Ф. А. БОГАТЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ПОЧВЕ //Фундаментальные и прикладные научные исследования: инноватика в современном мире. – 2019. – С. 22-25.
 9. Мустафакулова Ф. А. и др. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АНТАГОНИСТОВ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ //СОВРЕМЕННЫЕ ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ НАУКИ И ТЕХНОЛОГИЙ. – 2017. – С. 96-98.
 10. Мустафакулова Ф. А., Мирзаабдуллаева С. Н., Бахрамов Т. Т. ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С НАСЕКОМЫМИ-ВРЕДИТЕЛЯМИ //Страны. Языки. Культура: сборник материалов XI-й международной научно-практической конференции/Под ред. проф. Абуевой НН Махачкала: ДГТУ. 391 с. – 2020. – С. 250.