

ALISHER NAVOIY NOMIDAGI SAMARQAND DAVLAT UBIVERSITETI

TABIIY FANLAR FAKULTETI

BIOLOGIYA BO`LIMI

FIZIOLOGIYA, GENETIKA VA BIOKIMYO KAFEDRASI

“Biotexnologiya” magistratura yo`nalishi

Fan: BIOLOGIK VA DORIVOR MODDALAR BIOTEXNOLOGIYASI

KURS ISHI

**Mavzu: QISHLOQ XO`JALIGI UCHUN BAKTERIAL DORI-DARMONLARNI
AJRATIB OLISH TEXNOLOGIYASI**

Bajardi: *Qurbanov Azamat*

Tekshirdi: *Aliqulov Begali*

SAMARQAND-2013

Mavzu: QISHLOQ XO`JALIGI UCHUN BAKTERIAL DORI-DARMONLARNI AJRATIB OLIH TEXNOLOGIYASI

Reja:

- 1. Entomopatogen dori-darmonlar haqida umumiy tushunchalar**
- 2. Bakterial entomopatogen preparatlarni ajratib olish texnologiyasi**
- 3. Entomopatogen bakteriyalarni sanoat miqyosida ishlab chiqarish**
- 4. Entomopatogen preparatlarni zamburug`lardan ajratib olish texnologiyasi**
- 5. Boverin preparatini ajratib olish texnologiyasi**
- 6. Entomopatogen preparatlarni viruslar yordamida ajratib olish texnologiyasi**
- 7. Bakterial o`g`itlar ishlab chiqarish texnologiyasi**

1. Entomopatogen dori-darmonlar haqida umumiy tushunchalar

O`simliklarni har xil kasalliklardan muhofaza qilishga oid antibiotiklardan tashqari mikrobiologik ishlab chiqarish sanoati patogen mikroorganizmlar (bakteriyalar, mikroskopik zamburug`lar va viruslar) asosida zararli hashoratlarga qarshi kurashda foydalaniladigan preparatlar ishlab chiqarishni yo`lga qo`yildi.

Jahonda har yili zararkunanda-hashoratlarning tomonidan qishloq va o`rmon xo`jaligiga 100 mlrd.dollar zarar yetkaziladi. Zararkunanda-hashoratlarning har xil ximikatlarga nisbatan chidamliligi oshib borayotgani uchun ularga qarshi samarali kurash choralarini qidirish talab qilinaboshlandi. Hozirgi kunda dunyoning har xil mamlakatlarida 30 dan ziyod biologik entomopatogen preparatlar ishlab chiqariladi. Ular zararkunanda hashoratlarning ayrim turlariga nisbatan maxsus ta`sir ko`rsatish qobiliyatiga ega bo`lib, odamlar, issiqqonli hayvonlar, qushlar va foydali hashoratlarning uchun beziyon preparatlar hisoblanadi. Mikroorganizmlar negizida olinadigan entomopatogen preparatlar tabiiy sharoitlarda ishlab chiqilganligi va yana qaytadan tabiiy sharoitlarga mikrob patogen sifatida qaytarilganligi sababli biosenozlarda noqulay o`zgarishlarni yuzaga chiqarmaydi hamda xududning ekologik holatini ham izdan chiqarmaydi. Bu narsa ularni an`anaviy ishlatilib kelinayotgan kimyoviy insektisidlardan istiqbolli ekanligini isbotlaydi. Mikrobiologik sanoat ishlab chiqarishi tomonidan ishlab chiqariladigan entomopatogen preparatlarni uch guruhga bo`lish mumkin:

1. *Bacillus thuringiensis* negizida ishlab chiqariladigan - entobakterin-3, dendrobatsillin, insektin, toksobakterin.
2. *Beauveria bassiana* zamburug`i negizida ishlab chiqariladigan - boverin preparati.
3. *Yadro poliedrozi* virusi negizida ishlab chiqariladigan - virin-ENSH, virin-EKS preparatlari.

Hamma mikroblı preparatlar namlanadigan kukun yoki pasta, baʼzan dust, granula, kapsulashtirilgan kukun, kristall holatlarda ishlab chiqariladi.

2. Bakterial entomopatogen preparatlarni ajratib olish texnologiyasi

Sanoat ishlab chiqarishi boʻyicha ishlab chiqariladigan mikrobl preparatlari orasida bakterial preparatlar keng tarqalgandir. Ular hashoratga nisbatan verulentligi, atrofdagi flora va faunaga beziyonligi, zararkunandaga ancha tez taʼsir etishilari jihatidan ajralib turadi.

Shu paytgacha tadqiq qilingan entomopatogen bakteriyalar orasida keng qoʻllanilishi nuqtai nazaridan grammusbat bakteriya *Bac. thuringiensis* ni keltirib oʻtish mumkin. Bu bakteriya hashorat ichiga kirgandan soʻng, u hashoratni karaxt qilib qoʻyadigan sporalar hosil qilishdan tashqari, oʻsish jarayonida qator toksik birikmalar ishlab chiqaradi, bu birikmalarining boʻlishi esa, muayyan bakteriyalar negizida ishlab chiqariladigan preparatlarning samaradorligini oshiradi. Bakteriyalar tomonidan ishlab chiqariladigan toksik preparatlar orasida quyidagi toʻrt xil komponentni alohida koʻrsatib oʻtish mumkin:

1. **Alfa-ekzotoksin**, yoki fosfolipaza S-bakteriyalarning oʻsayotgan hujayralarini mahsuloti. Bu fermentning toksik taʼsiri hashoralar toʻqimalaridagi almashinmaydigan fosfolipidlaning parchalanishini indusirlaydi va bu narsa oʻz navbatida modda almashinuvini izdan chiqaradi, eng soʻnggida esa hashoratning oʻlimiga olib keladi;

2. **Beta-ekzotoksin**, yoki termostabil toksin. Bakteriyani oʻstirish suyuqligida hujayravni oʻsishiga mos holda yigʻiladi. Toksin tarkibiga oʻzaro teng nisbatda adenin, riboza va fosfat kislotasi kiradi. Beta-ekzotoksinni nukleotidning riboza va glyukozaning allosliza kislotasi bilan birgalikdagi birikmasi deb taxmin qilinadi. Uning taʼsiri, aftidan ATF bilan bogʻliq holdagi RNK-polimeraza va nukleotidazalarning ingibirlanishi tufayli RNK sintezining toʻxtab qolishiga bogʻliqdir. Toksinning hashoratga koʻrsatadigan taʼsir spektri juda keng, ayniqsa uning rivojlanishini dastlabki davrida *Bac. thuringiensis* ishlab chiqaradigan boshqa toksinlarga qaraganda uning taʼsiri sekinroq boʻladi va odatda hashoratning bir rivojlanish davridan boshqasiga oʻtishda yuz beradi. Koʻp toʻliq rivojlanish davri : tuxum - lichinka - qurt – gʻumbak – kapalak sikliga ega boʻlgan hashoralar uchun subletal dozali zaharlanishlar qayd qilingan. Hashoratlarning rivojlanish bosqichlari boʻyicha olib borilgan tadqiqotlar, beta-ekzotoksinni mutagen taʼsirga ega ekanligini, u hashoratlarni gen apparatini ishdan chiqarishini tasdiqlaydi;

3. **Gamma-ekzotoksin**, kam oʻrganilgan komponent, hali identifikatsiyalanmagan ferment (yoki fermentlar guruhi). Uning toksikligi ishonchlilik darajasida isbotlanmagan;

4. **Sigma-enzotoksin**, yoki parasporal endotoksin. Bakteriyani sporelanish jarayonida spora shakllanadigan qismiga qarama-qarshi boʻlgan qismida hosil boʻladi. Spora hosil boʻlish jarayonini nihoyasida bu toksin toʻgʻri sakkiz qirrali kristall shakliga oʻtadi. Kristallarning sintezi

stasionar fazada 3 soatda amalga oshadi. Kristallar organik erituvchilarda erimaydi, lekin sporalardan ajratilgandan keyin pH ning kuchli ishqoriy muhiti (11,5 dan yuqori) va ishqoriy buferlar (pH 7,9-9,5) da qaytaruvchilar ishtirokida yaxshi eriydi. Kristallar 100 °C gacha qizdirganda 30-40 minutdan keyin parchalanib ketadi va o'zining toksik ta'sirini yo'qotadi. Kristallarning kimyoviy tarkibida an'anaviy elementlar va aminokislotalar tarkibiga kiruvchi: karbon, azot, vodorod, kislorod, oltingugurtdan tashqari yana 19 xil element bo'ladi. Binobarin, ancha miqdorda kalsiy, magniy, kremniy, temir, kamroq miqdorda - nikel, titan, rux, alyuminiy, xrom, mis, marganets uchraydi; fosfor deyarli bo'lmaydi. Kristallar oqsildan tashkil topgani va har xil shtammlardan olingan preparatlarning aminokislota tarkibi bo'yicha o'zaro o'xshashligi isbotlangan. Kristalning tuzilmaviy butunligi aftidan oqsilning kremniy bilan bog'langanligi bilan bog'liq. Kristall oqsilning kimyoviy tabiati jihatidan spora po'sti oqsiliga o'xshash. Spora po'stida oshiqcha miqdorda oqsil hosil bo'lishi natijasida shu xildagi kristall hosil bo'ladi degan taxmin bor. Bu kristall oqsilning hashoratga qanday mexanizm orqali ta'sir etishi aniqlangan. Kristall hashoratning ichagida protoksin molekulasiga ajraladi, undagi proteinazalar ta'sirida toksik fragmentlarga parchalanadi. Tadqiqotchilarning fikriga ko'ra, protoksin molekulyar og'irligi 230000 Da li oqsil bo'lib, undan tangacha qanotlilarning ichagida toksik komponentning ajralib chiqishi uchun kerakli bo'lgan yuqori ko'rsatkichli pH sharoiti mavjudligi sababli bu toksik komponent ajralib chiqadi.

Hashorat o'lishi uchun kristallar uning organizmiga kirishi kerak. Kristallar qurt tomonidan yutilgandan keyin u oziqlanmay qo'yadi. Ko'p xollarda sigma-toksinning birlamchi ta'sir ko'rsatadigan ichak qismi uning o'rta qismi hisoblanadi. Kristallarga nisbatan reaksiyasiga qarab hashoratlarni uch guruhga bo'lish mumkin:

- umumiy paralich (falaj);
- ichakning o'rta bo'limini paralichi (falaji);
- kristallarga nisbatan moyillikka ega emas, lekin yaxlit preparatga nisbatan sezgirlikni namoyon qiladi.

Ko'p hashoratlar uchinchi guruhga kirib: endotoksin ta'sirida o'lmasdan, balki sporalarning o'sishi va bakteriyalarning keyingi bosqichda jadal ko'payishi natijasida nobud bo'ladilar. Hozirgi kungacha sigma-endotoksinlarning 12 ta serotipi va 15 ta varianti borligi aniqlangan. Ulardan endomopatogen bakterial preparatlar ishlab chiqarishda amaliy ahamiyatga ega bo'lganlari to'rtta variantdan iborat. Ular orasida: *tiringiensis* yoki *berliner* I serotipga mansub bo'lsa, *alesti* - III ga, *dendrolimus*-IV ga va *galleriya* - V ga mansubdir.

Ma'lumki, *Bac. thuringiensis* 130 turga mansub bo'lgan hashoratlarga nisbatan antagonistik ta'sirga ega, ular orasida dala, poliz, meva ekinlari, tok va o'rmon zararkunandalari uchraydi. Bu

guruh preparatlarni barg bilan oziqlanuvchi hashoratlarga qarshi qo'llanilganda yaxshi samaraga erishiladi.

3. Entomopatogen bakteriyalarni sanoat miqyosida ishlab chiqarish

O'stirish suyuqligida hujayralarning maksimal titriga erishish va toksinning yig'ilishini ta'minlash uchun produsentni chuqur o'stirishni hisobga oladi. Sanoat miqyosida ishlab chiqariladigan shtammlar yuqori talablarga javob beradigan bo'lishi lozim, chunki so'nggi mahsulotning sifat ko'rsatkichi ularga bog'liq bo'ladi. Bu talablar jumlasiga: shtammlarning qaysi serotipga mansubligi, yuqori darajadagi ta'sirchanligi va katta hajmda o'stirilganda mahsuldorligini saqlanishi, ketma-ket keladigan bosqichlar orqali mahsulotni ajratib olish jarayonlarida uning faolligini saqlanishi va preparatdan foydalanishning samaradorlini kiradi. *Bac. thuringiensis* entomopatogen shtammini sanoat miqyosida ishlab chiqarishda bu mikrobnining fagolizisini oldini olishdagi qiyinchiliklarga duch kelinadi. *Bac. thuringiensis* asosida ishlab chiqariladigan bakterial entomopatogen preparatlarning hammasini bir xil texnologiya bo'yicha ishlab chiqariladi. Quyida bu texnologiya entobakterin misolida ko'rib chiqiladi. Texnologiya mikrobiologik ishlab chiqarish amaliyotini hamma bosqichlarini xususan: mikroorganizmlarni chuqur uslub asosida o'stirish, «ekish» materialini laboratoriya sharoitida va o'stirish apparatida o'stirib ko'paytirish, katta hajmdagi fermentyorlarda o'stirish, mikroblari suyuqlikni konsentrlash, quritish, standartlash va tayyor mahsulotni qadoqlash ishlarini qamrab oladi. Sanoat korxonasida ishlab chiqarish shtammi *Bac. thuringiensis var. galleriae* ni go'sht-peptonli agarga «ekiladi» va uni erkin fagning mavjudligi, mahsuldorligi va verulentligi bo'yicha sinovdan o'tkaziladi. «Ekish» materialini olishda dastlab 3 l li kolbada titri 1ml da 17 mlrd spora hosil bo'lgunga qadar o'stiriladi, uni o'stirish apparatiga hajm bo'yicha 0,05 % miqdorda o'tkazib, 1 minutda 1 hajm muhit suyuqligiga 0,2 l hajm aeratsiyali havo berish sharoitida o'stiriladi. O'stirish materialini yuqorida keltirilgan titr darajasiga yetkazilib, muhit suyuqligining 0,0012 % hajmidagi miqdorda fermentyorga o'tkaziladi. Hamma bosqichlarda harorat ko'rsatkichini doimiy (28-30 °C) bir xilda ushlab turiladi. Fermentatsiya jarayonini davomiylikni ekish apparatida ham fermentyorda ham bir xil, ya'ni 35-40 soatni tashkil qiladi. Agar ekish materialini sporalar tarzida ajratib olinsa, ishlab chiqarishning hamma bosqichlarida bir xil tarkibli oziqa muhitidan foydalaniladi. Odatda u achitqili-polisaharidli muhit bo'lib, tarkibi (% hisobida): yem-oziqa achitqi – 2-3; makkajo'xori uni-1-1,5; kashalot yog'i-1,0 dan tashkil topadi. Agar ekish materialini o'stirishda uni spora hosil qilish darajasigacha yetkazish shart bo'lmasa, unda fermentyordagiga nisbatan ekish apparatida o'stirganda ancha kuchliroq konsentrlangan muhitdan foydalaniladi. Muhitning tarkibiga bog'liq holda asosiy fermentatsiyaning parametrlari ham o'zgarishi mumkin, xususan aeratsiya 1 minutga 1 hajm muhitga 1 hajm havo darajasigacha oshirilishi mumkin. Bundan tashqari foydalaniladigan oziqa

muhitining tarkibi hosil bo'lgan sporalar va kristallarning o'zaro nisbatiga ta'sir etishi mumkin. Masalan, bir xil sharoitda ish yuritganda, ya'ni fermentatsiya sharoitlari bir xil, lekin oziqa muhiti (% hisobida): texnik glyukoza-0,7; makkajo'xori ekstrakti-4; natriy xlorid-0,2 bo'lganda, sporalarning kristallarga bo'lgan nisbati 1:1 bo'lsa, oziqa muhiti (% hisobida): makkajo'xori ekstrakti-4; kepek-2 bo'lganda bu nisbat 1:1,7 ni tashkil qilar ekan. Fermentatsiyani boshlanishida muhitning pH boshqarilmaydi, muhit komponentlarini hammasini qo'shganda qancha bo'lsa shu ko'rsatkichda turadi, u ko'pincha 6,3 ga teng bo'ladi. Jarayonning nihoyasida u 8,0-8,5 gacha oshadi. Muhitning tabiiy tarzda asosli xossani namoyon qilishi hosil bo'lgan kristallarning mayda fragmentlarga bo'linishiga olib kelishi mumkin, bu esa ularni keyingi bosqichlarda ajratib olish texnologiyasini qiyinlashtiradi. Shu sababli mahsulotli suyuqlikka keyingi ishlov berishdan oldin pH 6,0-6,2 gacha nordonlashtiriladi. Jarayonni sporulyasiyasi 90-95 % bo'lganda va sporalarning titri 1 ml da 10 mlrd dan kam bo'lmaganda nihoyasiga yetdi deb hisoblanadi. Uni alohida katta hajmli idishga yig'iladi, suyuqligini esa, yana bir yoki ikki marta qaytadan oziqa muhiti tayyorlashda foydalanish mumkin. Bu suyuqlikni ko'p marta ishlatib bo'lmaydi, chunki unda mikrobn o'sishini tormozlovchi moddalar yig'ilib qoladi. Lekin undan yem-oziqa achitqi ishlab chiqarishda foydalanish mumkin bo'ladi. Shu asnoda ish yuritish ishlab chiqarish oqovalari hajmini kamaytirish, suv sarfini kamaytirishga sababchi bo'ladi va natijada jarayonning iqtisodiy samarasini oshiradi. Sanoat ishlab chiqarishini nihoyasida va mahsulotlarni ajratishda kristallar va sporalarning hujayra po'stloqlaridan ajralishi yuz berishi mumkinligi tufayli, yig'ilgan pastani undagi spora va kristallardan bir xil massa hosil bo'lishiga erishish maqsadida 30 minut davomida yaxshilab aralashtiriladi, hamda uning titrini, namligini, verulentligini, tarkibida fagning bor-yo'qligini tekshirish uchun namunalar olinadi. Shu yo'sinda hamma talablarga javob beradigan pastadan entobakterin preparati olinadi. So'nggi tayyor mahsulot ho'llanadigan kukun yoki stabillashtirilgan pasta hoida bo'lishi mumkin. Kukun pastani oldindan namlab keyinchalik purkagichli quritqichda 10 % li namlik darajasigacha quritiladi va titri 1 g da 30 mlrd spora bo'lgunga qadar kaolin qo'shib standartizatsiyalanadi. Tayyor mahsulot 4-qatlamli xaltachalarga 20 kg dan etib qadoqlanadi. Stabillashtirilgan pastaga karboksimetilsellyuloza (KMS) qo'shiladi. KMS molekulalari oqsil kristallari va sporalarni sorbsiyalaydi, ularni manfiy zaryadlaydi, bu narsa faollikni pastaning butun hajmi bo'ylab tekis taqsimlanishi, konservantni ham bir xil zichlikda bo'lishiga olib keladi. Shu holatda preparatning saqlash muddati uzayadi. Tayyor mahsulot yopishqoq konsistensiyali oqish-sarg'ish yoki och-kulrang rangli, sochilib ketmaydigan, saqlash jarayonida muzlamaydigan, hidsiz, chirimaydigan, bir xil massali preparat hisoblanadi.

Preparat bog'lar, poliz ekinlari, o'rmon daraxtlari zararkunandalariga qarshi kurash uchun mo'ljallangan. Preparat 60 dan ziyod o'simliklarning zararkunandalariga qarshi kurashda yaxshi samara beradi. Uni hashoratlar faol oziqlanadigan vaqtda suvli emulsiya tarzida o'simlikka

purkaladi. Noqulay ob-havo sharoitlari (yomg'ir, haroratning past bo'lishi, quyosh radiyasiyasi yuqori bo'lganda) da konsentratsiyani ikki marta oshiriladi. Odatda zararkunandalar 2-10 kun oralig'ida o'ladi. Poliz ekinlari ekilgan 1 ga maydonga 1-3 kg, bog'li maydonga-3-5 kg sepiladi. Entobakterindan foydalanish natijasida 1 ga maydondan yuqoridagi tartibda o'zaro mos holda poliz ekinlaridan 50 s va bog'li maydonlardan 5 s qo'shimcha hosil olish mumkin bo'ladi.

4. Entomopatogen preparatlarni zamburug'lardan ajratib olish texnologiyasi

Mikroskopik zamburug'lardan foydalanib ajratib olingan entomopatogen preparatlar zararkunanda-hashoratlarga ta'sir etib, ularda mikoza kasalligini keltirib chiqaradi. Entomopatogen bakteriyalar va viruslarga qiyoslaganda entomopatogen zamburug'lar qator o'ziga xos xususiyatlarga ega:

- ta'sir etish ovqat hazm qilish trakti orqali emas, balki bevosita kutikula orqali bo'ladi;
- ta'sir etish hashoratning qurt va imago davrlarida ham bo'lib o'tadi;
- zamburug'lar juda tez o'sish va reproduksiyalanish qobiliyatiga ega, shu bilan birga ular uzoq muddat tabiiy muhitda o'zlarining entomopatogen faolligini yo'qotmay saqlashi mumkin;
- ba'zi hashoratlarga nisbatan maxsus ta'sir kuchiga ega, bunda virulentlik qo'llaniladigan zamburug'ning shtammiga bog'liq bo'ladi.

Zamburug' preparatining hashoratga ta'siri sporaning uning tanasini teri qatlamiga o'tishi barobarli boshlanadi. Bu xil zamburug'ning o'tishi, uning segmentlari orasida jadal ravishda yuz beradi. Hashorat tanasiga kirgandan keyin zamburug' sporasi o'sib gifga aylanadi, ular o'z navbatida entomopatogen zamburug'larning infeksiya birligini tashkil qilgan gifal tanachalar-konidiylarga ajraladi. Qulay sharoitlarda konidiylarning hosil bo'lishi hashoratning kutikulasini yuzasida yuz beradi. Kutikulada hosil bo'lgan konidiyalar o'zlarining apressoriyalari (o'suvchi naylari uchidagi bo'rtmalari) bilan kutikulaga yopishib olib hashorat tanasiga mitsellyar o'simtalarini kiritadi. Konidiyalar hashorat tanasiga kirgandan so'ng gemolimfa yordamida harakatlanadi va zamburug'ning rivojlanishi boshlanadi. Shu bosqichning o'zida ba'zi shtammlar tomonidan ancha miqdorda toksinlarning ajralishi sodir bo'ladi. Hashoratning letal holati gemolimfa sirkulyatsiyasining izdan chiqishi va zamburug' tomonidan toksin ishlab chiqarilishi tufayli yuz beradi. Eng avvalo zamburug' hashoratning mushak to'qimasiga ta'sir etadi. Uning o'sishi hashoratning butun ichki organ va to'qimalari to'liq parchalanib ketgunicha davom etadi. Konidiyalarning o'sishi va hashoratlarning o'limigacha bo'lgan vaqt 2 kundan 8 kungacha bo'lgan muddatni o'z ichiga oladi. Zamburug'li entomopatogenlardan foydalanish istiqbollari ularni sanoat miqyosida ishlab chiqarish bazasini yaratish va ekish materialini ajratib olish texnologiyasini ishlab chiqilishi bilan bog'liqdir. Asosan zamburug'larning *Beauveria*, *Menarrium*, *Entomophora* avlodlari vakillarining shtammlari asosida ajratib olishga e'tiborni qaratiladi.

Zamburug'larning *Beauveria* avlodi asosida sanoat miqyosida preparatni ajratib olishda bu avlodning 60 tur hashoratga ta'sir etuvchi *B. bassiana* Vuill dan, 10 tur hashoralar asosan qo'ng'izlarni nobud qiladigan *B. tentlla* Del. dan foydalaniladi. Boverin entomopatogen preparati *B. bassiana* Vuill ning konidiasporalaridan tashkil topgan bo'ladi. Tayyor preparat oq yoki oq-sarg'ish rangli kukun bo'lib, uning 1 g da 1,5-6 mlrd konidiospora bo'ladi. Sporalardan tashqari boverinning faol jihati uning tarkibida boverisin toksinini bo'lishidir. Yuqori letal konsentratsiyaga (LK 100, ya'ni hashoratlarning 100 % o'lishiga) erishish uchun unga muayyan hudud uchun me'yor hisoblangan miqdorining 10 % gacha bo'lgan miqdorda insektisid qo'shimcha sevin, xlorofos, fozalon qo'shiladi. Shu yo'sinda ish yuritish faol dehqonchilik vohasida zaharli kimyoviy preparatlardan foydalanishni 90 % ga qisqartiradi. Preparat issiqqonlilar va odam uchun zararsiz, o'simliklarda ko'zga ko'rinarli o'zgarishlarni yuzaga keltirmaydi.

5. Boverin preparatini ajratib olish texnologiyasi

Entomopatogen boverin preparatini chuqurlashgan uslubda ko'paytirib o'stirish va yuza qismli ko'paytirib o'stirish uslubida ajratib olish mumkin. Boverinni chuqurlashgan uslubda ajratib olinganda barcha bosqichlardagi jarayonlar aseptik sharoitda olib boriladi. Bu bochqichlardan eng muhimi ekish materialini tanlab olish hisoblanadi. Dastlabki material *B. bassiana* Vuill ning agarlashtirib saqlanadigan shtammi bo'lib, uni oldin 25-28 °C da 3-4 kun davomida oziqa muhitida doimo aralashtiriladigan sharoitda ko'paytiriladi. Hosil qilingan konidiosporalar liofilizatsiya yo'li bilan quritiladi. Shu yo'sinda ajratib olingan ekish materiali ishlab chiqarish korxonasida 1 yil davomida yashovchanligi va virulentligini yo'qotmasdan saqlanishi mumkin. Ekish materiali fermentyordagi oziqa muhitida o'stirish uchun 1-2 bosqichda: oldin kolbada keyin, inokulyatorda yoki bir yo'la to'g'ridan-to'g'ri inokulyatorda ko'paytirish mumkin. Asosiy apparatda o'stirish uchun ekish materialining miqdori oziqa muhiti hajmini 2-10 % ni tashkil qilishi kerak. Sanoat ishlab chiqarishini hamma bosqichlarida oziqa muhitini tarkibi va harorat bir xil ushlab turiladi. Odatda oziqa muhitini tarkibi quyidagi komponentlardan tashkil topadi (%hisobida): lizirlanmagan yem-oziqa achitqisi-2; kraxmal-1; natriy xlorid-0,2; marganets xlorid-0,01; kalsiy xlorid-0,05. Kalsiy xloridning miqdoriy ko'rsatkichi kuchli ravishda o'zgartirilishi mumkin, chunki uni aralashmaga ko'proq miqdorda qo'shish konidiosporalarning har xil noqulay sharoitlarga nisbatan chidamliligini oshiradi. Ekish materiali ajratib olish maqsadida shtammni o'stirganda jarayonning davomiyligi 25-28 soat va harorat ham 25-28 °C bo'lsa, asosiy fermentyorda mahsulotni ajratib olish maqsadida o'stirganda aynan shu haroratda o'stiriladi va unga 3-4 kun kerak bo'ladi. Zamburug'ni ekish apparati (inokulyator) da va ishlab chiqarish fermentyorida o'stirganda aralashmalar doimo aralashtirib turiladigan va aeratsiyali sharoit yaratiladi. Asosiy apparatdagi jarayonning samaradorligi muhitda aminli azotning miqdorida bog'liq bo'ladi, uning taqchilligi

konidiosporalarning foiz miqdorini kamaytiradi. Muhitdagi aminli azotning optimal miqdori 10-15 mg % ni tashkil qiladi. Zamburug`ni chuqurlashtirilgan uslubda o`stirilganda 1-1,5 kunda yem-oziqa achitqisi to`liq lizirlanadi, zamburug` esa o`zining rivojlanishini barcha bosqichlarini (mitsellial, gonidial, konidial) bosib o`tadi. Seroqsilli muhitlarda konidialarni hosil bo`lishi uchun qulay sharoit yaraladi. Zamburug`ning to`la etilishi natijasida juda ko`p fermentlar ajraladi, bu narsa mitselliylarni lizisiga va konidialarning ko`p miqdorda hosil bo`lishiga olib keladi. Muhit suyuqligida hosil bo`lgan konidiosporalarning titri produsent-shtammning tabiatiga qarab 1 ml da 0,3 dan 1,3 mlrd gacha bo`lishi mumkin ekan. Bunda produsentli suyuqlikda konidiosporalar 90-92 % ni tashkil qilsa, gonidiylar 3-5 % ni tashkil qiladi, mitselliylar esa umuman bo`lmaydi. Tayyor mahsulotli suyuqlikni separatsiyalanadi yoki filtrlanadi. Filtrlagandan keyin 70-80 % li namlikka ega bo`lgan pasta hosil bo`ladi, uning titri 6-8 mlrd sporaga teng bo`lib, uni purkagichli quritkichga uzatiladi. Quritilgan sporalar 10 % li namlikka ega bo`lgan kukun hisoblanib, titri 1 g da 80 mlrd hujayraga teng bo`ladi. Letal konsentratsiya LK-50 (test-hashoratning 50 % gacha nobud bo`lishini ta`minlovchi doza) aniqlangandan keyin kukun tegishli miqdorda koalin qo`shib standartizatsiyalanadi.

Zamburug`ni yuza qismli uslubda ko`paytirish orqali boverin ajratib olish texnologiyasi uning oziqali suyuqlikdagi sporali pardasidan ajratib olishga asoslangan bo`lib, uzoq muddatli va juda qiyin amalga oshirilganligi sababli cheklangan ahamiyatga egadir. Quyida bu jarayonni sanoat va yarim sanoat miqyosida amalga oshirishning ba`zi jihatlari haqida mulohaza yuritiladi. Zamburug`ni yuza qismli ko`paytirishda ham suyuq oziqa muhitidan, ham yarim suyuq oziqa muhitidan foydalaniladi, bu muhitlarda zamburug` yaxshi o`sadi. Uning mikrobiologik ishlab chiqarilish jarayoni sporali parda hosil bo`lishi bosqichida yakunlanadi. Sporali pardani yig`ib olinadi, quritiladi, maydalanadi va zarurat bo`lsa tegishli miqdorda qo`shimcha qo`shib standartizatsiyalanadi. Boverin ishlab chiqarishda zamburug`ni quyidagi uslublar yordamida o`stiriladi:

- zamburug`ni suyuq muhitda avtoklavsiz, aralashtirmasdan, aeratsiyasiz;
- qattiq va suyuq avtoklavlangan muhitlarda aralashtirmasdan va aeratsiyasiz;
- zamburug`li pardani kombinatsiyalangan uslubda o`stirish.

Dastlabki ikki uslub zamburug`ni har xil o`simlik substratlari-qishloq ho`jalik mahsulotlarini qoldiqlarida o`stirishga asoslangan. Zamburug`ni o`stirish uchun kerakli bo`lgan optimum harorat 18-28 °C bo`lganligi sababli bu ishni janubiy xududlarda tashqi muhitning haroratida olib borish imkoniyati bor.

Zamburug`ni suyuq muhitda avtoklavsiz, aralashtirmasdan, aeratsiyasiz oldindan sterilizatsiyalamay o`stirganda, uni qaynash haroratigacha qizdiriladi, ichi polietilen plyonka bilan qoplangan yog`och karkasga to`kiladi. Shu yo`sinda tayyorlangan oziqa muhitini 35-40 °C gacha

sovitib unga quruq sporalarni «ekiladi». Karkasni usti polietilen plyonka bilan yopib qo'yiladi va uni muhitda sporali parda hosil bo'lgandan keyin ochiladi. Oziqa muhiti sifatida har xil qaynatmalardan foydalaniladi, masalan qand lavlagisi, kartoshka, oshqovoq, don, un qaynatmalari. Zamburug'ni avtoklavlangan qattiq va suyuq muhitlarda aralashtirmasdan va aeratsiyasiz sharoitda o'stirilganda har xil hajmlarda joylashtirilgan kartoshka, sabzi, makkajo'xori, tarvuz po'chog'i, ba'zan bug'doy va makkajo'xori urug'idan tashkil topgan qattiq-atala-agar tizimidagi oziqa muhitini 112 °C da 40 minut va suyuq-atala tizimidagi 7 % shakarli oziqa muhitini 110 °C da 20 minut davomida tutib turiladi. Steril substratga quruq spora yoki uning suspenziyasini kiritiladi va ekish materialini tekis tarqalishiga erishish uchun yaxshilab aralashtiriladi va tashqi muhitning 18-23 °C haroratida qoldiriladi. Quruq substratlarda konidiosporalarning hosil bo'lishi 12-15 sutkada nihoyasiga etadi. Zamburug' substrat qoldiqlari bilan birgalikda yig'ib olinib 25-28 °C da stellajlarda quritiladi. Tayyor mahsulotni hosil bo'lishi materialni mayda kukun darajasigacha yetkazish bilan nihoyasiga yetkaziladi. Suyuq substratlarda sporalarning hosil bo'lishi 7-10 kunda kuzatiladi, 18-25 kundan keyin esa, sporali pardani yig'ib olinadi. Uni shisha ustida quritiladi, yig'iladi, maydalanadi va torf yoki talk bilan aralashtiriladi. Bu xilda ishlaydigan sexning ish unumi 1 oyga 750-800 kg mahsulot bo'lib, sporalarning titri 1 g hisobiga 1,5*10 mlrd ni tashkil qiladi. Unumi ko'proq bo'lgan uslub kombinatsiyalangan uslub bo'lib, u o'z ichiga quyidagilarni qamrab oladi:

- g'allasimonlarning donida dastlabki o'stirish materialini yetishtirish;
- inokulyatni (zamburug' sporalarini) kolbalarda suyuq oziqa muhitida 12-17 soat davomida o'stirish;
- fermentyorda zamburug'ning vegetativ namunasini aeratsiyali va aralashtirib turish sharoitida 22-28 soat davomida o'stirish va yig'ish;
- zamburug'li suyuqlikni kyuvetalarga ko'chirish va sporali parda hosil qilish;
- sporali pardani yetiltirish, yig'ib olish va quritish;
- preparatni koalin qo'shib standartizatsiyalash.

Zamburug'ni o'stirishda quyidagi oziqa muhitidan foydalaniladi (% hisobida): qand lavlagisi chiqindisi-6; makkajo'xori ekstrakti-1; magniy sulfat-0,05; bir almashingan kaliy fosfat-0,2. Zamburug'ni o'stirishni 24-26 °C da amalga oshiriladi. Konidiyalarning titri inokulyasiya bosqichida ekish materialini 1 ml ga 0,5-2 mln ni tashkil qiladi. Asosiy fermentyorda ekish uchun mo'ljallangan inokulyatning miqdori muhitning 2-4 % ni tashkil qilishi kerak. Bunda ajratib olingan tayyor suyuqlikning 1 ml da 50-100 mln hujayra bo'ladi. Zamburug'larni kyuvetalarda o'stirilganda 16-18 soatda zamburug' pardasi hosil bo'lsa, 3-4 kunda spora hosil bo'lishi yuz beradi va 4-5 kunlarda esa yoppasiga konidiyalarni hosil bo'lishi kuzatiladi. Bu paytda zamburug' pardasi yig'ib olinib, quruq muhitli kyuvetalarga ko'chiriladi, qopqoq bilan yopilib, konidiyalarning

yetilishi uchun 2-3 kunga qoldiriladi. Undan keyin zamburug`li parda 28 °C da havo oqimida quritiladi. Quruq zamburug`li parda polietilen xaltachalarda 18-20 °C da saqlanadi. Boverinni tayyorlashdan oldin sporali material sharli tegirmonda maydalanadi va elakdan o`tkaziladi. Mahsulotning titri aniqlanadi va 15-20 minut davomida kaolinning tegishli miqdori bilan qo`shib aralashtiriladi. Tayyor mahsulot tarkibida 1 g hisobida 1,5 mlrd konidiospora bo`ladi. Boverinni meva bog`larining barglarni kemiruvchi zararkunandalariga qarshi ishlatiladi. Boverin kolorada qo`ng`izini lichinkalariga qarshi kurashda ham yaxshi samara beradi. O`simliklarga ishlov berishda bu preparatni purkab sepiladi. Preparatni zaharli kimyoviy moddalar bilan aralashtirishni qo`llashdan 2 soat oldin amalga oshiriladi.

6. Entomopatogen preparatlarni viruslar yordamida ajratib olish texnologiyasi

Entomopatogen preparatlar orasida virusli preparatlar hashoratlarga nisbatan o`ta maxsusligi bilan ajralib turadi. Ular odatda bitta turga mansub bo`lgan hashoratnigina shikastlaydi. Bu preparatlarning o`ta maxsusligi virusli preparatlarning odamlarga, floraga va faunaga amaliy jihatdan to`liq zararsiz ekanligini ko`rsatadi. Viruslar tashqi muhitning noqulay sharoitlari (harorat, namlik) ga juda chidamli, ular o`zlarining hayotiy faolligini hashoratning tanasidan tashqarida bo`lganda 10-15 yil davomida saqlay olish qobiliyatiga ega bo`ladi. Hashoratning virus bilan zararlanishi uning ovqatlanishi vaqtida yuz beradi. Ichakka kirib kelgan begona-tanacha u yerdagi pH ning ishqoriy ko`rsatkichida parchalanadi. Ajralib chiqqan vibriyonlar ichak devorlari orqali shikastlanuvchi hujayralarga kiradi, bu hujayralarning yadrolarida viruslarning replikatsiyasi yuz beradi. Hujayralardan ajralib chiqqan viruslar boshqa hujayralarni zararlantiradi va oqibat natijada hashorat lichinkasini o`limiga sababchi bo`ladi. Viruslarning o`ziga xos jihati, ular faqat tirik to`qimalardagina ko`payishidir. Bu narsa ularni sanoat ishlab chiqarishi miqyosida ko`paytirish texnologiyasini ishlab chiqishda qiyinchilik tug`diradi, chunki viruslarni ko`paytirish tirik xo`jayin-hashoratlardan foydalanish zarurligini taqozo etadi. Hozirgi kunda uch xil virusli entomopatogen preparatlar: virin-KKOVE (karam kapalagiga qarshi), TIQE (tok ipak qurtiga qarshi), va AOKVE (Amerika oq kapalagiga qarshi) ni ishlab chiqarilishi yo`lga qo`yilgan. Har qanday virusli preparatni ishlab chiqarish xo`jayin-hashoratni uning sog`lom fiziologik holatini ta`minlash asosida sun`iy oziqa muhitida ko`paytirish orqali amalga oshiriladi. Ma`lum taraqqiyot bosqichida (odatda qurt bosqichida) hashoratni oziqasiga virus suspenziyasini qo`shib zararlantiriladi. Bunda inokulyatni bir necha kasal lichinkalardan terib olinadi. Hashoratlar zararlantirilgandan keyin ularning to`qimalarida virusning maksimal yig`ilishini ta`minlaydigan sharoitda saqlanadi. Oradan 7-9 kun o`tgandan keyin o`lgan va o`layotgan lichinkalar terib olinadi, 33-35 °C da yengil-yelpi quritiladi, begona-tanachalarni to`qimalardan chiqarish uchun mexanik ravishda maydalanadi.

Hosil bo`lgan massaga har bir lichinka hisobiga 1 ml fiziologik eritma qo`shiladi, so`ng aralashma filtrlanadi.

Virin-KKOVE preparatini ishlab chiqarishda hosil bo`lgan poliedrlar filtratdan sentrifugalash yo`li bilan cho`ktirib ajratib olinadi. Cho`kma eng kam hajm miqdorda distillangan suvda eritiladi, unga oldindan sterillab qo`yilgan glitserin yordamida titri 1 ml da 1 mlrd poliedr ko`rsatkichigacha olib kelinadi. Tayyor preparat mayda shisha idishchalarga bir gektarlik yoki bir necha gektarlik normani hisobga olib bo`lib quyiladi. Bitta lichinkadan 36 mlrd gacha poliedr olish imkoni bor, bu lichinkaning quruq massasini 30 % ni tashkil qiladi. Virin-TIQE ishlab chiqarishda filtratga laktoza qo`shiladi, aralashtirgandan keyin esa, suspenziyani hajmiga nisbatan 4:1 nisbat hisobida atseton qo`shiladi. Aralashma tindirilgandan keyin cho`kma usti suyuqligi to`kib tashlanadi, cho`kma esa atseton uchib ketguniga qadar quritiladi. Preparatni dustga o`xshash tayyor shaklga keltirish uchun quruq cho`kmani mayda dispersli-kaolin yoki bentonit qo`shib 1 g poliedrning faolligi 1 mlrd gacha yetkaziladi. Virusli entomopatogen preparatlardan foydalanishda hashoratlarning epizootiyasini keltirib chiqarish maqsadida poliedrlar bilan ularning qalin populyasiyalarini zararlantirishga harakat qilinadi. Boshqa holatda, ya`ni hashoratlarning lichinkalarini ommaviy ravishda rivojlanishi davrida o`simliklarni preparatli suyuqlik bilan purkash yo`li bilan ham kurash olib boriladi.

7. Bakterial o`g`itlar ishlab chiqarish texnologiyasi

Tuproqlarda mavjud bo`lgan mikroflora uning unumdorligiga bevosita o`z ta`sirini ko`rsatadi va demak qishloq xo`jalik ekinlarining hosildorligiga ham ta`sir ko`rsatadi. Tuproq mikroorganizmlari o`sinh va rivojlanish jarayonlarida tuproqning strukturasi yaxshilashda, oziqa moddalarini to`planishida, har xil organik va anorganik birikmalarning mineralizatsiyalanishida faol ishtirok etadi. Xususan, azot va fosfor birikmalarini almashinishida faol ishtirok etib, ularni o`simlik tomonidan osongina o`zlashtiriladigan oziqa komponentiga aylantiradi. Tuproq mikroflorasini stimullash maqsadida har xil bakterial o`g`itlardan foydalaniladi, ular o`simlik rizosferasini foydali mikroorganizmlar bilan boyitadi.

Qishloq xo`jalik amaliyotida qo`llaniladigan bakterial o`g`itlar jumlasiga nitragin, azotobakterin va fosforobakterinlarni kiritish mumkin bo`ladi.

Quruq nitraginni ajratib olish texnologiyasi. Nitragin *Rhizobium* avlodiga mansub bo`lgan tuganak bakteriyalarning hayotiy faoliyati asosida tayyorlanadigan bakterial o`g`it hisoblanadi va no`xat, loviya, soya, yem-oziqa dukkaklilari, yo`ng`ichka kabi dukkakli o`simliklarini hosildorligini oshirishda qo`llaniladi.

Rhizobium avlodi bakteriyalari dukkakli o`simliklar bilan simbioz yashab atmosferadagi erkin azotni o`simlik tomonidan yengil o`zlashtiriladigan birikmaga aylantiradi. Bu bakteriyalar qat`iy ravishda aerob bakteriyalar hisoblanadi. Bu avlod vakillari orasida faol, kam faol va nofaol xillari

mavjud. Atmosfera azotini fiksatsiyalash faqat dukkakli o`simliklarning ildiz tizimi tuganaklarida yuz berishi mumkin. Tuganaklarning hosil bo`lishi dukkakli o`simliklarning ildiz tizimini *Rhizobium* avlodi vakillari tomonidan infisirlanishi tufayli sodir bo`ladi. Ildiz tizimini zararlanishi faqat yosh ildiz tuklari orqali bo`lib o`tadi, bakteriya unga kirib olganidan keyin uning o`zagigacha infeksiya ip tarzida cho`ziladi. Cho`zilgan ipchalar epidermis devorlari orqali ildizning po`stigacha etib borib tarmoqlanadi va po`st hujayralari bo`ylab taqsimlanadi. Bunda xo`jayinning hujayralarini bo`linishi va to`qimalarning o`sishi indusirlanadi. Xo`jayin-o`simlikning ildizini bakteriyalar lokalizatsiyalangan joyida tuganaklar hosil bo`ladi, u yerda ular juda tez ko`payadi va alohida-alohida tarzda yoki guruh-guruh bo`lib o`simlik hujayrasini protoplazmasida joylashadi. Bakterial hujayralarning o`zlari hajm jihatidan 10-12 marta kattalashadi va shaklini o`zgartiradi. Agar bu xildagi tuganaklar tarkibida legoglobulin pigmenti (hayvonlarning qonini gemoglobini analogi) ning mavjudligi tufayli qizg`ich yoki gulobi rangli bo`lsa, ular molekulyar azotni fiksatsiyalash qobiliyatiga ega bo`ladi. Bo`yalmagan («puch») yoki yashilroq bo`yoqli tuganaklar azotni fiksatsiyalay olmaydi. Tuganak ichida joylashgan bakteriyalar nitrogenaza faolligiga ega bo`lgan ferment tizimini sintezlaydi, u molekulyar azotni ammiakgacha qaytarish qobiliyatiga ega bo`ladi. Ammiak asosan qator fermentativ almashinuvlar yo`li bilan keyinchalik oqsillar biosintezi uchun sarflanadigan glutamin va glutamin kislotaga assimilyatsiyalanadi. Tuganakli bakteriyalarni tavsiflashda ularning faolligidan tashqari virulentlik ko`rsatkichini ham e`tiborga olinadi. Bu narsa mikroorganizmning dukkakli o`simlik bilan simbioz munosabatga kirishishi, ya`ni ildizning tuklari ichiga kirib olib, tuganak hosil qilishini tavsiflaydi. Bu xilda bakteriyaning ildiz tuklari ichiga kirib borishining tezligi muhim ahamiyatga ega. O`simlik *Rhizobium* ning o`zaro bir-biriga simbiotik yaqinligi simbiotik kompleksning unumliligini bildiradi. O`simlik bakteriyalarni kerakli oziqa moddalari bilan ta`minlaydi va ularni yashashi uchun optimal sharoit yaratadi. Bakteriyalar esa, tuganak ichida joylashib o`simlikni azotli oziqlanishini ta`minlaydi. O`simlik ham, bakteriya ham o`z-o`zidan azotni fiksatsiyalay olmaydi. Virulentlik deganda mikroorganizmning muayyan o`simlik turiga nisbatan tanlov qobiliyati tushiniladi. Shuning uchun *Rhizobium* avlodini zamonaviy tasniflashda o`simlik-xo`jayinni e`tiborga olish lozim bo`ladi, xususan: *Rh. phaseoli-*loviya uchun; *Rh. vigna-mais*, yer-yong`oq uchun; *Rh. lupini-lyupin* (bo`rilukkak) uchun maxsus bo`lgan bakteriyalar turlari hisoblanadi. Bakterial o`g`itlar tayyorlash ishlab chiqarishini tashkil qilishda asosiy vazifa - tuganakli bakteriyalar negizida hayotiy ko`rsatkichi yuqori bo`lgan, texnologik jarayonning barcha bosqichlarida hayotiy ko`rsatkichlarini saqlaydigan, uzoq muddat davomida faolligini yo`qotmaydigan bakteriya turlarini ko`paytirish hisoblanadi. Ikki xil nitraginni ajratib olish yo`lga qo`yilgan, ular: tuproq va quruq nitragenlaridir. Tuproq nitrojeni - bu sterilizatsiyalangan tuproqda o`stirilgan tuganakli bakteriyalar hisoblanadi. Bu preparatning 1 g da 0,3 mlrd. hayotchan bakteriya hujayralari bo`ladi. Uni ajratib olish texnologiyasi murakkab va

ancha qiyin amalga oshiriladigan jarayon hisoblanadi. Quruq nitragin unga qo'shimcha (bentonit, kaolin, bo'r) qo'shilgan holda oq-kulrang yoki jigarrang kukun bo'lib, uning 1 g ni tarkibida 9 mlrd dan ziyod hayotchan bakteriya hujayralari bo'ladi. Kukun tarkibidagi namlikning miqdori 5-7 % dan oshmaydi.

Nitraginni sanoat miqyosida ishlab chiqarilishi mikrobiologik korxonaning aseptik sxemasi asosida amalga oshiriladi. Tirik hujayra shtammlarini ishlab chiqarishning eng «tor» jihatini, uni quritish muammosini hal qilish bilan bog'liq bo'lganligi sababli, har gal foydalaniladigan shtammlarni baholashda, ularning mahsuldorligini inobatga olish bilan birga, haroratli ta'sirga nisbatan chidamliligini ham hisobga olish talab qilinadi. Ekish materialini olish uchun tuganakli bakteriyani dastlabki namunasini oldin tarkibida, masalan, dukkakli o'simliklarning urug'ini qaynatmasi, 2 % agar va 1 % saxaroza bo'lgan agarlashtirilgan muhitda o'stiriladi, keyin hosil bo'lgan mikroblar aralashmani kolbada suyuq oziqa muhitida 1-2 kun davomida 28-30 °C va pH 6,5-7,5 bo'lgan sharoitda ko'paytiriladi. Sanoat ishlab chiqarishini hamma bosqichlarida bir xil tarkibli oziqa muhitidan foydalaniladi, uning tarkibida: qand lavlagisi qoldiqlari, makkajo'xori ekstrakti, ammoniy va magniy sulfatlar, natriy xlorid, ikki almashingan kaliy fosfat bo'ladi. Tayyor bo'lgan ekish materialini 1 ml ni tarkibida 10 mlrd hujayra bo'lib, undan oziqa muhitini 3-5 % hajmida ekish apparatiga ko'chiriladi va yuqorida keltirilgan haroratda, doimo aralashtirish hamda aeratsiyalash (1 minutda 1 hajm muhitga 1 hajm havo yuborish) sharoitida o'stirib ko'paytirishni davom ettiriladi. Agar 1 kun o'tgandan keyin ekish materialining titri 1ml hisobiga 2 mlrd ga etsa, o'stirishni to'xtatiladi, hosil bo'lgan ekish materialini muhit hajmiga nisbatan 3-5 % hajmda fermentyorga o'tkaziladi. Asosiy fermentatsiyani 2-3 kun o'sha harorat, o'sha muhitning pH ko'rsatkichida, lekin havo oqimining biroz yuqori ko'rsatkichida (1 minutda 1 hajm muhitga 1,3 hajm havo yuborish) amalga oshiriladi. Jarayonning oxirida hujayralarning titri 1 ml muhitda 10 mlrd ga yetadi. Tayyor mikroblar aralashmani separatsiyalanadi, bunda pastasimon biomassa hosil bo'ladi, uning namligi 70-80 % ni tashkil qiladi. Biomassaga tarkibi qand lavlagisi qoldiqlari va tiomochevina (20:1 nisbatda) dan iborat bo'lgan himoya muhiti qo'shib aralashtiriladi va quritish uchun yo'naltiriladi. Quritish jarayoni vakuum-quritkichda 30-35 °C da amalga oshiriladi. Quritilgan biomassa maydalanadi, unda shtamm hujayralari titri 1 g hisobiga 10 mlrd ni tashkil qiladi. Nitraginning quruq preparatlarini 0,2-1 kg hisobida polietilen xaltachalarga qadoqlanadi va fermentizatsiyalanadi, 15 °C da 6 oygacha saqlanadi. Nitragin preparatini fosforli-kaliyli va organik o'g'itlar fonida qo'llaniladi, chunki bunda tuganakli bakteriyalarning faolligi oshadi. Nitragin dukkakli o'simliklarning hosildorligini 15-25 % ga oshiradi, bu ekinlar birinchi bor ekiladigan xududlarda esa 100 % ga oshiradi. Nitraginni ekishdan oldin urug'larga preparatning quruq kukunini sepib keyin ekiladi.

Quruq azotobakterinni ajratib olish texnologiyasi. Azotobakterin - bakterial o'g'it bo'lib tuproq mikroorganizmi *Azotobacter chroococcum* asosida ajratib olinadigan preparat hisoblanadi. Uni ajratib olishda har 1 g sarf etilgan shakar hisobiga 20 mg atmosfera azotini fiksatsiyalaydi. Bundan tashqari o'g'it sifatida ishlatilgan bakterial o'g'itlar tuproqqa o'simliklarni o'sib chiqishi va rivojlanishini stimullovchi biologik faol moddalar (nikotin va pantoten kislotalar, piridoksin, biotin, geteroauksin, gibberilin va boshqalar) ni ishlab chiqaradi, ular tomonidan produksiyalanadigan anisomitsin guruhiga mansub bo'lgan fungisid moddalar esa, o'simliklarning rizosferasida zararli mikroskopik zamburug'larning rivojlanishini bo'g'ib qo'yadi.

Azotobakterlarning hamma turlari – aerob bakteriyalar jumlasiga kiradi. Bu mikroblar muhitdagi organik va anorganik shakldagi fosforning miqdoriga nisbatan sezgirlikni namoyon qiladi, uning muhitdagi miqdorini ko'p bo'lishi *Azotobakter*ni rivojlanishini jadallashtiradi. Oziqa muhitida fosforning miqdorini kam bo'lishi bakteriyalarning rivojlanishini susaytiradi, azotni o'zlashtirish qobiliyati ham pasayadi. *Azotobakter* ning ko'p turlari azotni faqat bog'langan azotning miqdori kam bo'lgan muhitda yoki umuman bo'lmagan muhitda o'zlashtiradi. Bu mikroblarning azotni o'zlashtirish qobiliyati muhitda ammiak bo'lganda susayadi. Molibden (ba'zan vanadiy) birikmalari azotni o'zlashtirilishiga stimullovchi ta'sir ko'rsatadi. Molekulyar azotni o'zlashtirilishi uchun mas'ul nitrogenaza tizimi multiferment kompleksi bo'lib, uni tarkibida gen bilan bog'lanmagan temir, molibden va SH-guruhlar bo'ladi.

Mikrobiologik sanoat azotobakterinning bir nechta: quruq, tuproqli va torfli turlarini ishlab chiqaradi.

Quruq azotobakterinni ishlab chiqarish texnologiyasi ko'p jihatdan nitragin ishlab chiqarish texnologiyasiga o'xshash, shu sababli quyida, uning farqli tomonlarinigina ko'rib chiqiladi. Quruq azotobakterin tarkibiga qo'shimcha ravishda qo'shilgan *Azotobakter* ning quritilgan faol hujayralari hisoblanadi. Uning 1g da 0,5 mlrd hayotchan hujayralar bo'lishi lozim. Mikroorganizmning shtammlari *Rhizobium* hujayralarini o'stirishda foydalanilgan oziqa muhiti komponentlaridan foydalaniladi. Unga qo'shimcha ravishda muhitga temir va marganetsning sulfat tuzlari, shuningdek molibdenat kislotalarning murakkab tuzidan qo'shiladi. O'stirish jarayonida muhitning pH ni 5,7-6,5 chegarasida tutib turib, 1 minut davomida 1 hajm muhitga 1 hajm havo yuborish darajasidagi aeratsiyadan foydalaniladi. Quritilgan tayyor mahsulotni tegishli miqdorda qo'shimcha qo'shgandan so'ng polietilen xaltachalarga 0,4-2 kg etib qadoqlanadi. Shu holatda haroratni 15 °C da ushlab turib 3 oygacha saqlash mumkin.

Tuproqli va torfli azotobakterinni ajratib olish texnologiyasi. Azotobakterinning bu turlari qattiq oziqa muhitida o'stirilgan faol *Azotobakter* hisoblanadi, uning 1 g da 50 mln dan kam bo'lmagan hayotchan hujayralar bo'ladi. Ularni tayyorlash uchun unumdor tuproq yoki neytral reaksiyali chiriyotgan torf olinadi. Maydalangan va elakdan o'tkazilgan substratga 2 % ohak va 0,1

% superfosfat qo`shiladi. 500 g aralashma shisha idishga ko`chiriladi, hajm bo`yicha 40-60 % gacha namlantiriladi, paxta bilan yopib qo`yib sterilizatsiyalanadi. Ekish materialini tarkibida 2 % saxaroza va mineral tuzlar bo`lgan agarli muhitga ko`chiriladi. O`stirishni 27 °C da 3-5 kun davomida amalga oshiriladi. Hosil bo`lgan ekish materialini agarning yuzasidan suv bilan yuvib olinadi va oldindan tayyorlab qo`yilgan shisha idishdagi substratga ko`chiriladi. Shisha idishdagi massani yaxshilab aralashtiriladi va 25-27 °C da tutib turiladi. O`stirishni 1 g tuproq yoki torfda bakteriyalarning soni 50 mln ga yetganicha davom ettiriladi. Shu yo`sinda olingan preparatlar o`zining faolligini 2-3 oy davomida saqlay oladi. Azotobakterin preparatini unumdor, tarkibida fosfor, mikroelement (molibden, vanadiy, bor va boshqa) lar bo`lgan tuproqlarda foydalanish tavsiya etiladi. Azotobakterinni organik va mineral o`g`itlar bilan to`g`ri nisbatda qo`shib qo`llash yaxshi samara beradi. Azotobakterin urug`larni, ko`chatlarni, kompostlarni bakterizatsiyalashda foydalaniladi. Bunda o`simliklarning ildiz orqali oziqlanishi yaxshilanadi va g`allasimonlar, texnik va sabzavot ekinlarining hosildorligi 10-15 % ga ko`payadi. Azotobakterinni qo`llashda g`allasimonlar bo`lsa, ekishdan oldin ularning urug`lariga sepib keyin ekiladi, kartoshkani tuganagini va sabzavot ekinlarini ko`chatlarini bakteriyalarning suvli suspenziyasi bilan xo`llanib keyin ekiladi.

Fosforobakterinni ajratib olish texnologiyasi. Fosforobakterin - bakterial o`g`it bo`lib, tarkibida *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum* mikroorganizmining sporalaridan iboratdir. U bir xil massali och-kulrang yoki sarg`ish rangli kukun hisoblanadi. Bu bakteriyalar murakkab fosfororganik birikma (nuklein kislotalar, nukleoproteidlar va boshqalar) ni va qiyin o`zlashtiriladigan mineral fosfat (pirofosfat, polifosfat) larni o`simliklar tomonidan o`zlashtiriladigan shaklga o`tkazadi. Bundan tashqari bakteriyalar o`simliklarning o`sishini (ayniqsa rivojlanishini dastlabki paytida) stimullovchi biologik faol modda (tiamin, piridoksin, biotin, pantoten va nikotin kislotalari, vitamin B₁₂ va boshqa) lar ishlab chiqaradi. Fosfobakterin fosforli o`g`itlarning o`rnini bosmaydi, ularsiz ta`sir etaolmaydi ham. Ular stimullovchi samara beradigan preparatlar jumlasiga kiradi.

Fosfobakterinni *Bac.megaterium* var. *phosphaticum* shtammidan foydalangan holda va uni chuqur uslubda o`stirib ko`paytirish orqali ajratib olinadi. O`stirishni liofil tarzda quritilgan dastlabki shtammdan quyidagi tarkiblardagi oziqa muhitlarini biridan foydalangan holda ajratib olinadi (% hisobida):

1. Makkajo`xori ekstrakti.....	1,8
Qand lavlagisi chiqindisi.....	1,5
Ammoniy sulfat.....	0,1
Bo`r.....	1

Suv.....qolgan qismi

2. Makkajo`xori uni..... 2,0

Qand lavlagisi chiqindisi1,5

B kompleks vitaminlar (D vitaminini olishda qolgan qoldiq)..2,0

Ikki almashingan kaliy folsfat0,01

Kalsiy karbonat0,3

Suv.....qolgan qismi.

Bakteriyani o`stirish aseptik va doimo aralashtirish sharoitida fermentyorlarda sporalar hosil bo`lish bosqichigacha olib boriladi. Jarayonning olib borish sharoiti: harorat 28-30 °C, muhitning pH 6,5-7,5, davomiyligi 1,5-2 kundan iborat bo`ladi. Birinchi muhitda o`stirilganda 1 ml o`stirish muhiti suyuqligida 2,7-3 mlrd. spora bo`lsa, ikkinchi muhitda o`stirilganda 4,3 mlrd bo`ladi. Hosil bo`lgan biomassa sentrifugalash yo`li bilan ajratiladi va 65-75°C da purkovchi quritkichda 2-3 % namlik darajasigacha quritiladi. Qurtilgan sporalar qo`shimcha (kaolin) qo`shib aralashtiriladi. Shu yo`sinda tayyorlangan preparatning 1 g da 8 mlrd hujayra bo`lishi lozim. Uni 50-500 g dan namlik kirmaydigan xaltachalarga qadoqlapnadi.

Nitrugin va azotobakterindan farqli o`laroq fosforobakterin saqlash uchun ancha chidamli, uni 1 yil saqlaganda bakteriyalarning hayotchanligi 20 % gagina kamayadi. Fosforobakterinni qora tuproqli tuproqlarda qo`llash tavsiya qilinadi. U g`allasimonlar, kartoshka, qand lavlagisi va boshqa ekinlarni hosildorligini oshirishda ahamiyati katta. Preparatni tuproqqa solish uchun o`simliklarning urug`ini fosforobakterin preparati qo`shib ishlov beriladi, buning uchun esa, preparatni tuproq yoki kulga qo`shib 1:40 nisbatda aralashtiriladi va shu holatda ekiladi. Bir gektar maydonga 5 g preparat va 200 g qo`shimcha modda (kaolin) kerak bo`ladi. Kartoshka tuganaklarini 15 g preparatga 15 l suv qo`shib suspensiya tayyorlanadi va bu miqdor preparat bir gektarga ketadigan kartoshka urug`iga ishlov berishga yetadi. Fosforobakterindan foydalanish hosildorlikni 10 % ga oshiradi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Бекер М.Е. и друг. Биотехнология. – М.: Агропромиздат, 1990. 354 с.
2. Биотехнология лекарственных средств. Учебное пособие/ Под ред. Быкова В.А. и Далина М.В. – М.: Медбиоэкономика. - 1991. – 303с.
3. Биотехнология. Принципы и применения. – Пер. с англ./ Под ред. И.Хиггинса, Д.Беста, Дж. Джойса. – М.: Мир. – 1988.
4. Биотехнология: Учебное пособие для ВУЗов. В 8 кн./ Под ред. Егорова Н.С., Самуилова В.Д. – М.: Высшая школа. – 1987.
5. Молекулярные и клеточные аспекты биотехнологии/ Под ред. Инге-Вечтомова С.Г. – Л.: Наука. - 1986.- 256с.
6. Синицин А.П., Райнина Е.И., Лозинский В.И., Спасов С.Д. Иммуобилизованные клетки микроорганизмов. – М.: Изд-во МГУ.- 1994.- 288с.
7. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. – М.: Изд-во МГУ. – 1994. – 512с.
8. Егоров Н.С. Биотехнология. Проблемы и перспективы. – М.: Высшая школа. – 1987.
9. Зудин. Автоматизация биотехнологических процессов.
10. Ешков Н.П. Основы биотехнологии. – СПб.: Наука. – 1995.
11. Седых Н.В. Контроль качества биотехнологической продукции. – Рига.: Зинатна. – 1990.
12. Стакишкис. Оптимизация управления биотехнологическими процессами. – Вильнюс.: Мокалос. – 1984.
13. Бартошевич Ю.Е. и др. Современное состояние и перспективы биокатализа в производстве β -лактамных антибиотиков. – Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1986. - № 2. – С 101.
14. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина Т.С. – СПб.: СПХФИ. – 1997. – 44с.
15. Иммуобилизованные ферменты. Современное состояние и перспективы/ Под ред. Березина И.В., Антонова В.К., Мартиника К. – Т. 1,2.- М.: Изд-во МГУ. – 1976.
16. Экологическая биотехнология/ К. Форстер. – Л.: Химия. – 1990.- 320с.
17. Биотехнология – сельскому хозяйству/ Под ред. Лобанка А.Г. – Минск: Ураджай. – 1988. – 198с.
18. Основы биотехнологии: Методические рекомендации к занятиям/ Сост. Гурина С.В., Потехина В.Г. Биотехнология.
19. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств
20. Биотехнология/ Под ред. Кестнера А.И.
21. Воробьева Л.И. Промышленная микробиология: Учебник для вузов. – М.: МГУ. – 1989. – 293с.
22. Вакула В.Л. Биотехнология, что это такое? М.: Молодая гвардия – 1989. – 301с.
23. Мишустин Е.Н. Биотехнология. Сб.: Знание. – 1988. – 64с.
24. Сассон А. Биотехнология: свершения и надежды/ Пер. с англ. Мехедова С.Л., Миркина С.М. – М.: Мир. – 1987. – 410с.
25. <http://www.biotechnologii.narod.ru>
26. <http://www.nauka.ru>
27. <http://www.wikipedia.ru>