

DOI: <https://doi.org/10.36719/2789-6919/21/118-121>

**Xoşqədam Əliyeva**  
“Odlar Yurdu” Universiteti  
magistrant  
eliyeva.x.25@gmail.com

## “MİKROBİOLOJİ PREPARATIN HAZIRLANMASI”

### Xülasə

Bacillus cinsinin bakteriyaları yüksək biotexnoloji potensialına malikdir. Mikrob bu mikroorqanizmlərə əsaslanan preparatlar müasir kənd təsərrüfatında geniş istifadə olunur. Bunlar bitki məhsulların mühafizəsi kök çürüməsinə, toxum kifinə, Phytophthora, Alternaria, Rhizoctonia, Oidium və s. qarşı işlədilir. Müəyyən edilmişdir ki, B. pumilus (MSH) ştammi Mucor və Aspergillus kimi fitopatogenlərin böyüməsini maneə törədir. Bununla yanaşı B.amyloliquefaciens, B.badius, B.gibsonii, B.konsorsiumu, B.methyloprophicus, B.pumilus, B.simplex, B.halotolerans ştammları bitki fitopatogenlərinin qarşısını almaqda hər birindən istifadə edilir.

*Açar sözlər: ştam, kriyokonservasiya, liyofilizasiya, bioreaktor, fermentator.*

**Khoshgadam Aliyeva**  
Odlar Yurdu" University  
master student  
eliyeva.x.25@gmail.com

## "Preparation of microbiological preparation"

### Abstract

Bacteria of the genus Bacillus have high biotechnological potential. Microbe preparations based on these microorganisms are widely used in modern agriculture. These are the protection of plant products against root rot, seed mold, Phytophthora, Alternaria, Rhizoctonia, Oidium, etc. used against. It was found that B. pumilus (MSH) strain inhibits the growth of phytopathogens such as Mucor and Aspergillus. Besides, B.amyloliquefaciens, B.badius, B.gibsonii, B.consortium, B.methyloprophicus, B.pumilus, B.simplex, B.halotolerans strains are used to prevent plant phytopathogens.

*Keywords: strain, cryopreservation, lyophilization, bioreactor, fermenter.*

### Giriş

ABŞ, Çin, Braziliya, Argentina və Rusiya ən çox kənd təsərrüfatı məhsulları istehsal edən ölkələr sırasındadır. Bitkilərin müxtəlif fitopatogenlərdən mühafizəsi hal-hazırda ən vacib məsələlərdən biridir (Azizbekyan, R. R., Zayavleniye, 2019: 55). Milli iqtisadiyyatın bu sektorunun ən mühüm problemi bitki mühafizəsinin istifadəsi kənd təsərrüfatında kimyəvi maddələr geniş yayılmışdır. Mikrob biopreparatları faydalı olması üçün canlı mikroorqanizmlərin hüceyrələri seçilir. Onların tərkibində metabolitlər də ola bilər. Bioloji bitmiş forma preparat mikroorqanizmlərin maye kulturası ola bilər. Bu olduqda əlavə təmizlik əməliyyatlarına ehtiyac olmayacaq. Mikrob məhsulunun hazırlıq forması məcun şəklində, qatılmış hüceyrə biokütləsi və ya gel və s. ola bilər. Lazım olan məhsul quru formada istehsal olunarsa, istehsal dövrünə yüksək texnoloji proseslərin tətbiqi zəruri olmalıdır. Kriyokonservasiya və ya liyofilizasiya biopreparatların xüsusiyyətlərini qorumaq və raf ömrünü uzatmaq üçün istifadə olunur (Murodova, S.S., Davranov, 2014: 92).

Qablar, mayalar, aktinomisetlər və digər bakteriyalar biotexnologiyada geniş istifadə olunur. Tərkibində monokultura deyil, bütün konsorsium olan biopreparatlar mikroorqanizmlər son illərdə geniş populyarlıq qazanmışdır. Bunun səbəbi isə mikrobudur. Mikrobun tərkibi müxtəlif ekoloji

faktorlara daha davamlıdır və maddələr mübadiləsi gücləndirmişdir (Nopcharoyenkul, V., Pinfanichakarn, P., Pinyakong, O., Appl, J., 2011: 36).

Bacillus cinsinin bakteriyaları yüksək biotexnoloji potensialına malikdir. Mikrobu mikroorqanizmlərə əsaslanan preparatlar müasir kənd təsərrüfatında geniş istifadə olunur. "Fitosporin-M", "Alirin-B" və "Baktofit" ən məşhur basil əsasıdır (Kozhemyakov, Kozhemyakov, Laktionov, Popova, Orlova, Kokorina, Vayshlya, Agafonov, Guyvin, Churakov, Yakovleva., 2015: 50).

Bunlar bitki məhsulların mühafizəsi kök çürüməsinə, toxum kifinə, Phytophthora, Alternaria, Rhizoctonia, Oidium və s. qarşı işlədilir. Müəyyən edilmişdir ki, B. pumilus (MSH) ştammi Mucor və Aspergillus kimi fitopatogenlərin böyüməsini maneə törədir. Bununla yanaşı B.amyloliquefaciens, B.badius, B.gibsonii, B.konsorsiumu, B.methyloprophicus, B.pumilus, B.simplex, B.halotolerans ştammları bitki fitopatogenlərinin qarşısını almaqda hər birindən istifadə edilir. Buna görə də kənd təsərrüfatı üçün polikomponent preparatların yaradılması basillərə əsaslanaraq perspektivlidir (Birkher, Geyrnart, Khammes, Lakrua, Shvab, 2018: 72).

EC "Prombiotech" mikroorqanizmlər kolleksiyasından üç B. pumilus ştammi istifadə edilmişdir (Salamatova, Minayeva, Akimova, 2010: 20).

### Cədvəl 1. Tədqiqatın obyektləri

Ştammlar	Mənbə	Toplanılan yer
B.pumilus 4	Berteroa incana rhizosphere	İsmayılı rayonu
B.pumilus 7	Rumex acetosa rhizosphere	İsmayılı rayonu
B.pumilus 16	Cichorium intybus rhizosphere	Qobustan rayonu

L-qidalı mühit bakteriya kulturasını əldə etmək və sayını hesablamaq üçün istifadə edilmişdir. Bacillus cinsinin növləri termostatda 37°C-də 18-24 saat inkubasiya edilir. B.pumilus ştammları 500 ml kolbalarda çalkalayıcı inkubatorunda yetişdirilir. Fermentatorun iş həcmi təqribən 10-12 L-dir. Buna görə də, hər bir gərginliyin başlanğıc mədəniyyəti 1 litr həcmdə hazırlanmışdır (Kupletskaya, Netrusov, 2011: 80).

B. pumilus ştammları üçün hazırlanmış qida mühitinin tərkibinə (%): 2,5 bəkməz, 1,25 qarğıdalı ekstraktı, 0,1 maya ekstraktı, 0,05 pepton, 0,025 MgSO<sub>4</sub>, 0,003 MnSO<sub>4</sub>, 0,1 CoCl<sub>2</sub>. 1 L üçün 10 µl nisbətində salın məhlulu, duz mayesi, 1 q FeSO<sub>4</sub>, 1 q CuSO<sub>4</sub> və 100 ml distillə edilmiş su aiddir (Prikhodko, Avdeyenko, Konferentsiya, 2018: 94).

Bioreaktorlarda ilkin şərtlər: steril havanın verilməsi sürəti – 0,5 L/dəq, pH – 6,8-7,0, təzyiq - 0,2-0,3 atm., qarışdırma sürəti - 250 rpm, temperatur - 37 ° C, yetişdirmə vaxtı isə 18-24 saatdır.

Fermentasiya prosesi başa çatdıqdan sonra bioreaktor maye şəklində alınır və

4100 rpm-də 20 dəqiqə sentrifuqa edilir. Sonra hüceyrə biokütləsi ilə qarışdırılır qoruyucu mühit (2,5% jelatin və 10% saxaroza) və dondurulur. Quru konsentratları istehsal etmək üçün liofilləşdirilir.

Cədvəldəki (cədvəl 2) nəticələr göstərir ki, bütün tədqiq edilmiş ştammlar öz daxilində yüksək bolluğa çatmışdır. Bütün B. pumilus ştammları üçün OD və pH oxşar və optimal dəyərlər daxilindədir. Mikroskopik tədqiqatlara görə, 18-24 saat becərildikdən sonra mikroskop sahəsində vegetativ hüceyrələr üstünlük təşkil edir. Sporlar aşkar edilməmişdir (Bottone, Med, 2003: 69).

## Cədvəl 2. B. pumilus ştamlarının göstəriciləri

Ştamlar	Say CFU/ml	OD	pH
B.pumilus 4	$3.22(\pm 0.28) \times 10^9$	0.387 $\pm$ 0.040	7.09 $\pm$ 0.14
B.pumilus 7	$1.54(\pm 0.39) \times 10^9$	0.269 $\pm$ 0.067	6.86 $\pm$ 0.19
B.pumilus 16	$2.02(\pm 0.56) \times 10^9$	0.366 $\pm$ 0.069	6.74 $\pm$ 0.29

Cədvəl 3-də 15 litrlik fermentatorda Bacillus kulturalarının OD dinamikası göstərilir. Fermentasiya sonunda B. pumilus 4 orta OD daha sürətli dəyişdi, digər ştamlar isə təxminən eyni ilə qaldı.

## Cədvəl 3. Bioreaktorun becərilməsi saatlarına görə OD dəyişməsi

Ştamlar	OD saatlara görə			
	2	4	6	18-24
B.pumilus 4	0.649 $\pm$ 0.174	1.402 $\pm$ 0.260	1.819 $\pm$ 0.323	2.291 $\pm$ 0.366
B.pumilus 7	0.593 $\pm$ 0.171	1.173 $\pm$ 0.248	1.585 $\pm$ 0.353	2.285 $\pm$ 0.125
B.pumilus 16	0.574 $\pm$ 0.107	1.084 $\pm$ 0.075	1.590 $\pm$ 0.390	2.383 $\pm$ 0.065

Fermentasiya başlayandan 18-24 saat aralığında OD dəyişməyi dayandırır, mikroskopik analiz vegetativ hüceyrələr üzərində sporların üstünlük təşkil etdiyini göstərir. Fermentasiya Bacillus cinsinin ştamlarının bir qədər fərqləndiyini göstərir, lakin bu becərmə müddətinə ciddi təsir göstərməmişdir (Khan, Martines-Idalgo, Ays, Maymon, Khamm, Nedzhat, Sanders, Kaplan, Khirsh, 2018: 23). Liyofil qurutmadan sonra bütün tədqiq edilmiş ştamların hüceyrələrinin sayı ardıcıl olaraq artmışdır. Ən yüksək hüceyrə sayı qurutma B. pumilus 7 konsentrat xarakterikdir (Mokhamed, Peterson, Tkachenko, 2016: 160).

## Cədvəl 4. İstehsal prosesləri zamanı basillərin sayının dəyişməsi

Ştamlar	Fermentatordakı nömrə, CFU/ml	Liyofilləşdirilmiş konsentratda sayı, CFU/g	bitmiş hazırlıqdakı nömrə, CFU/g
B.pumilus 4	$1.62(\pm 0.60) \times 10^{10}$	$2.92(\pm 0.80) \times 10^{11}$	$1.30(\pm 0.31) \times 10^{12}$
B.pumilus 7	$1.37(\pm 0.07) \times 10^{10}$	$5.78(\pm 0.90) \times 10^{11}$	
B.pumilus 16	$3.78(\pm 0.34) \times 10^{10}$	$2.65(\pm 0.34) \times 10^{11}$	

Bacillus bakteriyasının liyofilləşdirilmiş biokütlə çəkisi hər biri üçün təxminən 70-80 q təşkil edir. Hər üç basil ştamının konsentratları 1:1:1 nisbətində qarışdırılıb hazırlığı tamamlanır. Biopreparatın praktiki olaraq müəyyən edilmiş hüceyrə sayı B. pumilus ştamlarının CFU/g əlavəsinə əsaslanan riyazi hesablamalara uyğundur. Bakteriya hüceyrələrinin çoxluğu bitmiş mikrob preparatını xarakterizə edir. Buna görə də yaxşı bioloji aktivliyə malik olduğu güman edilir (İrkitova, Grebenshchikova, 2018: 45).

### Nəticə

1. L-bulyon sınaqdan keçmiş ana ştamlarının becərilməsi üçün əlverişli qida mühitidir.
2. Fermentatorda bəkməz əsaslı mühit B. pumilus 4, B. pumilus 7, B. pumilus 16 - sayını artırır. Bunu qablarda etmək mümkün deyildi.
3. Liyofil qurutma bakteriyaların sayını başqa bir miqyasda  $10^{11}$ -ə qədər artırır.
4. Üç B. pumilus ştamının bərabər nisbətdə qarışdırılması ilə alınan biopreparat konsentratların son hüceyrə sayı  $1,30(\pm 0,31) \times 10^{12}$  CFU/g təşkil edir.

### Ədəbiyyat

1. Azizbekyan, R. R., Zayavleniye, (2019). Biokhimiya, mikrobiologiya. 55 s.
2. Murodova, S.S., Davranov, K.D. (2014). Biotechnologia Acta. 92 s.
3. Nopcharoyenkul, V., Pinfanichakarn, P., Pinyakong, O., Appl, J. (2011). Mikrobiologiya. 36 s.
4. Kozhemyakov, A.P., Kozhemyakov, YU.V. Laktionov, T.A. Popova, A.G. Orlova, A.L. Kokorina, O.B. Vayshlya, Ye.V. Agafonov, S.A. Guyvin, A.A. Churakov, M.T. Yakovleva, (2015). Selskokhozyaystvennaya biologiya. 50 s.
5. Birkher, L., Geyrnart, A., Khammes, F., Lakrua, K., Shvab, K. (2018). Microb.Biotechnol., 72 s.
6. Salamatova, Dzh.A., Minayeva, O.M., Akimova, Ye.Ye. (2010). Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta, Biologiya, 20 s.
7. Kupletskaya, M.B., Netrusov, A.I. (2011). Mikrobiologiya, 80 s.
8. Prikhodko, Ye.M., Avdeyenko, S.S. Konferentsiya, (2018). «Razvitiye nauki, tvorchestva i tvorchestva» innovatsionnaya aktivnost' molodezhi. 94 s.
9. Bottone, E.Dzh., J. of Med. (2003) Mikrobiologiya, 69 s.
10. Khan, N., Martines-Idalgo, P., Ays, T.A., Maymon, M., Khamm, E.A., Nedzhat, N., Sanders, E.R., Kaplan, D., Khirsh, A.M., Front. (2018). Mikrobiologiya., 23 s.
11. Mokhamed, KH., Peterson, A.M., Tkachenko, G.G. (2016). Izvestiya Saratovskogo universiteta, 160 s.
12. Irkitova, A.N., Grebenshchikova, A.V., Ukr. Dzh. (2018). Mikrobiologiya, 45 s.

Göndərildi: 09.03.2023

Qəbul edildi: 15.05.2023