

Главный редактор — Ливанцов Аркадий Дмитриевич, доктор экономических наук, Минэкономразвития РФ

Помощник редактора — Артемьева Любовь Павловна, доктор технических наук, МГУТУ, РФ

Ефимов А.Н. — доктор биологических наук, ТвГУ, РФ

Ананьева М.Ю. — доктор юридических наук, адвокат, РФ

Могилев Л.П. — доктор физико-математических наук, ИМФИ ТГУ, РФ

Лубянин С.А. — доктор психологических наук, КГМУ, РФ

Павлова Ю.С. — доктор медицинских наук, СГМУ, РФ

Державина П.О. — доктор химических наук, АО «СДС Азот», РФ

Черкашин О.Я. — доктор педагогических наук, МПГУ, РФ

Кудрявцева Л.В. — доктор филологических наук, ИГЛУ, РФ

Валюшин Я.В. — к.ист.наук, ГУК «Забайкальский краевой краеведческий музей имени А.К. Кузнецова», РФ

Кирюшкина О.А. — к. филос. наук, ЮФУ, РФ

Чараев А.В. — к. геол. наук, СВГУ, РФ

Дишлюк П.М. — к. соц. наук, СПбГИПСР, РФ

Звягинцев А.М. — к. сельхоз наук, Нархоз, Казахстан

Арутюнят К.А. — к. полит. наук, РАУ, Армения

Горин Л.Л. — к. геогр. наук, АГУ, РФ

Романов Р.В. — к. тех. наук, ПензГТУ, РФ

Онегина Т.А. — к. мед. наук, КГМУ, РФ

Лебедева В.В. — к. мат. наук, БГИТУ, РФ

Осипов П.К. — к. псих. наук, частный психолог, РФ

Невзоров Б.А. — к. юр. наук, ЧПИ(ф) ФГБОУ ВО МГМУ (МАМИ), РФ

Валиев В.К. — к. хим. наук, ОАО «Ирбитский химфармзавод», РФ

Дубова К.Р. — к. пед. наук, ВПА им. Ленина, РФ

Статьи, поступающие в редакцию, рецензируются. За достоверность сведений, изложенных в статьях, ответственность несут авторы. Мнение редакции может не совпадать с мнением авторов материалов. При перепечатке ссылка на журнал обязательна. Материалы публикуются в авторской редакции.

Главный редактор — Ливанцов Аркадий Дмитриевич, доктор экономических наук, Минэкономразвития РФ

Помощник редактора — Артемьева Любовь Павловна, доктор технических наук, МГУТУ, РФ

Ефимов А.Н. — доктор биологических наук, ТвГУ, РФ

Ананьева М.Ю. — доктор юридических наук, адвокат, РФ

Могилев Л.П. — доктор физико-математических наук, ИМФИ ТГУ, РФ

Лубянин С.А. — доктор психологических наук, КГМУ, РФ

Павлова Ю.С. — доктор медицинских наук, СГМУ, РФ

Державина П.О. — доктор химических наук, АО «СДС Азот», РФ

Черкашин О.Я. — доктор педагогических наук, МПГУ, РФ

Кудрявцева Л.В. — доктор филологических наук, ИГЛУ, РФ

Валюшин Я.В. — к.ист.наук, ГУК «Забайкальский краевой краеведческий музей имени А.К. Кузнецова», РФ

Кирюшкина О.А. — к. филос. наук, ЮФУ, РФ

Чараев А.В. — к. геол. наук, СВГУ, РФ

Дишлюк П.М. — к. соц. наук, СПбГИПСР, РФ

Звягинцев А.М. — к. сельхоз наук, Нархоз, Казахстан

Арутюнят К.А. — к. полит. наук, РАУ, Армения

Горин Л.Л. — к. геогр. наук, АГУ, РФ

Романов Р.В. — к. тех. наук, ПензГТУ, РФ

Онегина Т.А. — к. мед. наук, КГМУ, РФ

Лебедева В.В. — к. мат. наук, БГИТУ, РФ

Осипов П.К. — к. псих. наук, частный психолог, РФ
Невзоров Б.А. — к. юр. наук, ЧПИ(Ф) ФГБОУ ВО МГМУ (МАМИ), РФ
Валиев В.К. — к. хим. наук, ОАО «Ирбитский химфармзавод», РФ
Дубова К.Р. — к. пед. наук, ВПА им. Ленина, РФ

Художник: Шинаров А.П.
Верстка: Залевский Н.И.

Научное Содружество «Сиентия»

Адрес: 119071 г Москва, ул Стасовой, д5, помещ 1, комната 5

Адрес электронной почты: editor@scientia-journal.ru

Адрес веб-сайта: <http://scientia-journal.ru>

Учредитель и издатель: Научное Содружество «Сиентия»

Тираж 1000 экз.

СОДЕРЖАНИЕ

БИОТЕХНОЛОГИЯ

Кабдеш И.М., Додонова А.Ш., Аманов С. Б.
ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДОВ НА СКОРОСТЬ
ОБРАЗОВАНИЯ ЭНДОТОКСИНА *BACILLUS*
THURINGIENSIS.....5

ГОРНОЕ ДЕЛО

Родионов А.О.
ПРИМЕНЕНИЕ НАВЕСНЫХ
ГИДРАВЛИЧЕСКИХ МОЛОТОВ ДЛЯ
ПЕРВИЧНОГО РАЗРУШЕНИЯ ГОРНОГО
МАССИВА8

ИНФОРМАТИКА

Kulnevich A. D.
DATA MINING.....10

МАШИНОСТРОЕНИЕ

*Хаскин В. Ю., Коржик В. Н., Шевченко В. Е.,
Ткачук В. И., Пелешенко С.И., Бабич А.А.,
Войтенко А. Н., Олейниченко Т. В.*
РЕЗКА ЛИСТОВЫХ УГЛЕРОДИСТЫХ СТАЛЕЙ
ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ.....13

ПРИБОРОСТРОЕНИЕ

Суторихин В.А.
«ЭФФЕКТ ГОРБУНОВА» РАСШИРИЛ
ВОЗМОЖНОСТИ АКУСТИЧЕСКОЙ
ЭМИССИИ.....19

БИОТЕХНОЛОГИЯ

ВЛИЯНИЕ УГЛЕВОДОВ НА СКОРОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ ЭНДОТОКСИНА BACILLUS THURINGIENSIS

Кабдеш Ильяс Муратулы

*Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова,
г.Караганда*

Додонова Александра Шавкатовна

*к.б.н., Карагандинский государственный университет им. Е.А. Букетова,
г.Караганда*

Аманов Сержан Бахытулы

*к.б.н., Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений,
г.Алматы*

THE EFFECT OF CARBOHYDRATES ON THE PRODUCTION RATE OF BACILLUS THURINGIENSIS ENDOTOXIN

Kabdesh Ilyas Karaganda State University Karaganda

Dodonova Alexandra Candidate of Science, Karaganda State University Karaganda

Amanov Serzhan Candidate of Science, Kazakh Scientific Research Institute of plant protection and quarantine Almaty

АННОТАЦИЯ

В статье ставится проблема выбора оптимальной среды для культивирования клеток *Bacillus thuringiensis* с целью добиться наиболее раннего образования эндотоксина. Проанализировано влияние углеводов на скорость продуцирования кристаллического токсина *B.thuringiensis*. Также проведен сравнительный анализ энтомоцидной активности токсинов, полученных в разных условиях. Модификация питательной среды, представленная в данной работе, приводит к раннему накоплению токсина и ранее не описана. На основе проведенного исследования авторами сформулированы рекомендации по выращиванию штамма *B.thuringiensis*.

ABSTRACT

The article raises the problem of choosing an optimal nutrient medium for the cultivation of *B.thuringiensis* cells in order to achieve the earliest formation of endotoxin. Analyzed the effect of carbohydrates on the production rate of *B.thuringiensis* endotoxin. Also comparative analysis of insecticidal activity of the toxin produced in different conditions. Modification of the nutrient medium presented in this work bring to the early accumulation of the toxin and previously not described. On the basis of the study by the authors made recommendations for growing *B.thuringiensis* strain.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*; бактерия; штамм; эндотоксин; энтомопатоген; культивирование; оптимизация; капустная моль.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*; bacterium; strain; endotoxin; entomopathogen; cultivation; optimization; diamondback moth.

Вопросы охраны природы и сохранения полезных насекомых определяют ограничение применения пестицидов в народном хозяйстве [3, с. 23]. Во всех сферах АПК осознана необходимость использования микроорганизмов и их метаболитов и соответственно этому для нужд растениеводства, животноводства, ветеринарии и кормопроизводства развивается разработка и применение биопрепаратов [2]. Доказано, что длительное применение химических средств приводит к появлению устойчивых популяций вредных видов насекомых и клещей, число которых в настоящее время возрастает. Накапливаясь в природе, применяемые пестициды вызывают нежелательные мутации живых организмов даже через многие годы [3, с. 23]. Кроме того, в последнее время в рамках программы Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) по биологической борьбе с важными переносчиками болезней человека и животных

также ведутся поиски способов применения для этой цели энтомопатогенных бактерий [4].

Общепризнано, что наиболее перспективна в этом отношении бактерия *Bacillus thuringiensis*, послужившая основой в биотехнологическом производстве микробиологических препаратов в борьбе с насекомыми – вредителями (по различным оценкам от 90 до 99%) [2]. *Bacillus thuringiensis* – энтомопатогенный аэробный почвенный грамположительный микроорганизм, обладающий способностью в ходе споруляции образовывать кристаллоподобные включения, состоящие из энтомоцидных белков – эндотоксинов (также называемых Cry-белками) [1, с. 60]. Кристалл токсина представляет собой агрегат, состоящий из высокомолекулярного белка, является протоксином, необходима предварительная активация, практически нерастворим в воде (растворяется лишь в среднем кишечнике чувствительных видов насекомых при pH около 9.5) и является безопасным для всех по-

звоночных (включая человека) и большинства насекомых, проявляя высокую специфичность по отношению к насекомому—хозяину. После растворения в кишечнике подвергается расщеплению протеазами с образованием активного δ -токсина с молекулярной массой 60 кДа. Активный токсин прикрепляется к мембранам эпителия среднего кишечника насекомых, вызывая уравнивание концентраций ионов снаружи и внутри клеток, что приводит к нарушению работы пищеварительной системы личинки, постепенно вызывая голодную смерть [5]. Разрушив клетки кишечника, попадают в богатую питательными веществами гемолимфу насекомого, где начинают активно размножаться.

В настоящее время стоит вопрос выбора оптимальной среды для культивирования этих бактерий с целью получения наибольшего выхода эндотоксина в среду, т.к. оптимизация условий намного упростила и ускорила бы производство биопрепаратов, а минимизация затрат повлияла бы на себестоимость продукта.

В связи с этим, целью нашей работы было: изучение энтомопатогенных свойств *B.thuringiensis* в различных условиях культивирования и их оптимизация для повышения скорости образования токсина. Работы выполнялись в лаборатории биотехнологии Казахского научно-исследовательского института защиты и карантина растений (КазНИИ ЗиКР) в г.Алматы и в лаборатории биотехнологии и молекулярной генетики Карагандинского государственного университета им. Е.А. Букетова (КарГУ им. Е.А. Букетова).

Материалы и методы. В работе использовали штамм *B.thuringiensis*. Морфологию клеток штамма исследовали с помощью микроскопа «BinaLogic XSZ-107BN» (Германия) с иммерсионной системой при 1600-кратном увеличении, изучение физиологических свойств, тестов на патогенность

в отношении насекомых выполняли стандартными методами. Хранение штамма осуществляли при положительном низкотемпературном замораживании на агаризованной среде. В качестве модели для исследования патогенности использовали гусениц капустной моли (*Plutella maculipennis* Curt.), выращиваемых в климатической камере при температуре 25°C.

Культивирование бактерий осуществляли в течение 4 суток на жидкой питательной среде глубинным способом на термостатированной качалке при температуре 30°C и 220 оборотах в минуту. При этом помимо стандартной питательной среды были использованы две ее модификации с добавлением глюкозы и сахарозы соответственно для изучения влияния углеводов на скорость образования эндотоксина.

Состав питательной среды №1 (далее – N) (г/л): пептон – 6,6; NaCl – 5; дрожжевой экстракт – 5; вода дистиллированная.

Состав питательной среды №2 (далее – G) (г/л): пептон – 6,6; NaCl – 5; дрожжевой экстракт – 5; глюкоза – 3,3; вода дистиллированная.

Состав питательной среды №3 (далее – S) (г/л): пептон – 6,6; NaCl – 5; дрожжевой экстракт – 5; сахароза – 3,3; вода дистиллированная.

Результаты. В ходе исследования с целью модификации условий культивирования исследуемого штамма в питательные среды вводились углеводы в концентрации 0,3%. В эксперименте исследовали скорость образования эндотоксина *B.thuringiensis*.

Полученные результаты приведены в Таблице 1 и Рисунке 1.

Таблица 1

Динамика роста количества эндотоксина в различных средах

	N	S	G
1 сутки	-	103	-
2 сутки	216	164	-
3 сутки	312	496	58
4 сутки	630	795	495

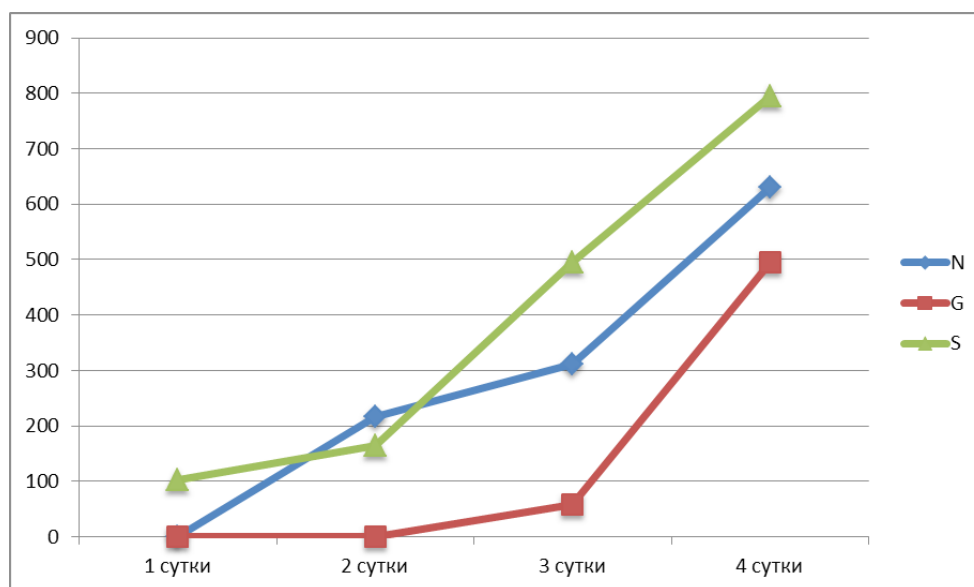


Рисунок 1. Динамика роста количества эндотоксина в различных средах

Из представленных материалов видно, что культивирование в среде с добавлением глюкозы показало наименее выраженное действие на скорость образования кристаллов эндотоксина, т.к. они были обнаружены в среде на 3 сутки культивирования в незначительном количестве (58 единиц в зоне видимости). Присутствие в среде сахарозы имело наиболее выраженный эффект на продукцию токсина, о чем говорит наличие эндотоксина в среде уже на 1 сутки культивирования, причем в наиболее заметном количестве (103 единицы в зоне видимости).

Отсюда можно сделать вывод, что наиболее оптимальной средой для культивирования клеток *B.thuringiensis* с целью добиться получения наибольшего выхода эндотокси-

на является модификация стандартной питательной среды с добавлением сахарозы. В данном случае более высокая скорость выхода токсина по сравнению с выходом в нормальных условиях объясняется в воздействии сахарозы на жизнедеятельность клеток таким образом, что их более активное деление приводит к более скорому спорообразованию, и соответственно, продуцированию токсина в более ранние сроки.

Было произведено заражение гусениц эндотоксином в составе питательных сред стандартной и с добавлением сахарозы. От среды, включавшей в состав глюкозу, было решено отказаться ввиду относительно невысокой концентрации токсина (Таблица 2) (Рисунок 2).

Таблица 2

Динамика смертности гусениц после заражения токсином, полученном в различных условиях

	Контроль -	N	S
1 сутки	19%	25%	40%
2 сутки	26%	49%	57%
3 сутки	30%	56%	63%

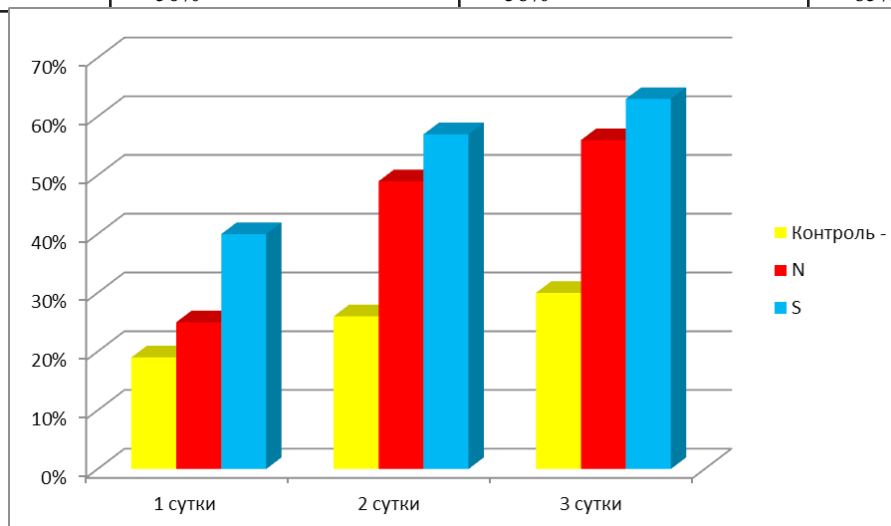


Рисунок 2. Инсектицидная активность эндотоксина, полученного в разных условиях

Наглядно видно, что культуральная жидкость, полученная на среде с добавлением сахарозы, обладает более высокой энтомоцидной активностью, погибло 63% личинок. В варианте опыта с применением нормальной среды, без внесения углеводов, количество погибших гусениц составило 56%. Более высокая патогенная активность токсина, полученного в среде с добавлением сахарозы, объясняется более высокой концентрацией токсина в культуральной жидкости, что в конечном итоге привело к более высокой его инсектицидной активности.

На основе результатов, полученных в данной работе, были сформулированы следующие выводы: оптимизирован состав питательной среды, приведший к повышению скорости образования токсина - добавление сахарозы в среду способствует появлению токсина на вторые сутки культивирования. Кроме того, данный токсин обладает большей энтомопатогенной активностью в сравнении с токсином, полученным в нормальных условиях на 7%.

По результатам исследований, представленных в данной работе, были сформулированы рекомендации по выращиванию штамма *B.thuringiensis* в питательной среде с добавлением сахарозы в концентрации 0,3%. Сокращение срока наработки токсина несомненно имеет практическое,

приводя к уменьшению временных затрат и соответственно оптимизации ресурсов. Важна также более высокая энтомоцидная активность полученного токсина в сравнении с токсином, продуцируемым в нормальных условиях. Помимо этого в качестве источника углеводного питания как альтернатива сахарозе, может быть использован такой отход сахарной промышленности, как меласса, что в свою очередь приведет к удешевлению конечной себестоимости биопрепарата.

Список литературы:

1. Додонова А.Ш., Кабдеш И.М. Энтомопатогенные свойства *Bacillus thuringiensis* // *Conduct of modern science*. – Sheffield, 2015. – P. 60
2. Смирнов О.В. Патотипы *Bacillus thuringiensis* и экологические основы их использования в защите растений // Автореф. дисс. докт. биол. наук. – Пушкин, 2000. – 42 с.
3. Узденов У.Б. Энтомопатогенные бактерии и перспективы их использования // *Успехи современного естествознания*. — 2007. — №12. — С. 23.
4. URL: <http://chem21.info/info/1279964/>
5. URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Bacillus_thuringiensis